

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1934-1935.

N° 12.

Le Rhaponticoside (Rhaponticine)
et sa caractérisation dans
les préparations de Rhubarbes officinales
falsifiées par le Rhapontic

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 1935.

PAR

CHARLES ESTÈVE,

PHARMACIEN DIPLÔMÉ DE LA FACULTÉ DE PARIS

JURY { MM. A. GORIS, Président.
EM. PERROT, Professeur.
M. MASCRÉ, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1935

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1934-1935.

N° 12.

Le Rhaponticoside (Rhaponticine)
et sa caractérisation dans
les préparations de Rhubarbes officinales
falsifiées par le Rhapontic

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 1935.

PAR

CHARLES ESTÈVE,

PHARMACIEN DIPLÔMÉ DE LA FACULTÉ DE PARIS

JURY { MM. A. GORIS, Président.
EM. PERROT, Professeur.
M. MASCRÉ, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

—
1935

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. P. GUÉRIN, Doyen, O. *, I.
 P. LEBEAU, Assesseur, O. *, I.
 P. DESPORT, Secrétaire, *, I.

PROFESSEURS

GUÉRIN, O. *, I	Botanique générale.
PERROT, O. *, I	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. *, I	Zoologie.
LEBEAU, O. *, I	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, *, I	Chimie analytique.
GORIS, O. *, I	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, I	Physique.
DAMIENS, *, I	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *, I	Chimie biologique.
SOMMELET, *, I	Chimie organique.
LUTZ, *, I	Cryptogamie et Micro- biologie.
FABRE, *, I	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, I	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : RADAIS, O. *, I.

Professeurs honoraires : MM. BÉHAL, G. O. *, I. et DELÉPINE, O. *, I.,
 Membres de l'Institut, et GUERBET, *, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. MARC HONNORAT, *, I	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *, I	Pharmacodynamie.
DELABY, *, I	Hydrologie et Hygiène.
PICON, I	Chimie minérale.
BACH, I	Microbiologie.
FLEURY, I	Chimie organique.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, A.	MM. MASCRÉ, I.	MM. BEDEL, I.
PICON, I.	FLEURY, I.	RÉGNIER, I.
	BACH, I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, I., <i>agrégé</i> , chargé des T. P. de 1 ^{re} année	Chimie générale.
FLEURY, I., et RÉGNIER, I., <i>agrégés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, I.	Micrographie.
LEROUX, I.	Physique.
DEVAL, *, I.	Microbiologie.
DELABY, *, I., PICON, I., et MASCRÉ, I., <i>agrégés</i> , chargés des Travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, I.



A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT GORI^S,

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR,
DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HÔPITAUX DE PARIS.

En témoignage de ma respectueuse gratitude

A MA MÈRE ET A MON PÈRE.

A MA SŒUR.

*Témoignage de reconnaissance
et d'inaltérable affection.*

INTRODUCTION.

Les Rhubarbes officinales et leurs préparations galéniques sont souvent falsifiées par diverses espèces de *Rheum*, dont la plus commune est le *Rheum Rhaponticum* L.. Mais tous les autres *Rheum* non officinaux tels que : *Rheum undulatum* L., *Rheum compactum* L., *Rheum Emodi* Wall., *Rheum Ribes* L., etc., doivent être considérés comme des falsifications au même titre que le *Rheum Raponticum*.

Les différences morphologiques externes permettent de distinguer les plantes fraîches ou entières ; les différences micrographiques sont souvent imprécises ; les unes et les autres deviennent très délicates et généralement illusoires lorsqu'il s'agit de déterminer avec certitude l'origine des échantillons commerciaux de Rhubarbe ou des préparations galéniques de cette drogue.

L'étude de la composition chimique des *Rheum* ne permet pas, du moins à l'heure actuelle, la distinction rapide des espèces ; mais c'est à elle cependant, et à elle seule, qu'il faut avoir recours pour reconnaître les préparations de Rhubarbes vraies de celles des autres *Rheum* communément désignés sous le nom de *Rhapontics*.

Il existe en effet entre les Rhubarbes vraies et les Rhapontics une différence fondamentale : c'est la présence chez ces derniers d'un glucoside appelé suivant les auteurs : *Rhaponticine*, *Ponticine*, *Rhapontine*, glu-

coside que l'on ne retrouve jamais dans les Rhubarbes vraies.

Deux groupes de procédés très distincts sont utilisés pour déceler les falsifications des Rhubarbes par les Rhapontics.

1. Les procédés du premier groupe, qui sont aussi les plus anciens, s'inspirent de méthodes chimiques ; ils reposent tous sur l'extraction de la rhaponticine et sa caractérisation ultérieure ; ils sont tous longs et généralement compliqués et ne donnent le plus souvent de certitude que dans les cas de substitution totale ou de falsifications très grossières.

2. Les procédés du second groupe sont beaucoup plus récents et féconds. Ils utilisent la différence de fluorescence que présentent les échantillons de Rhubarbes vraies et de Rhapontics soumis à la lumière de Wood.

Lorsque M. le Professeur GORIS nous fit l'honneur de nous proposer un sujet de thèse, il nous conseilla de chercher à préciser l'origine de cette différence.

Nos recherches dans ce sens ne nous ont pas permis de nous limiter à l'unique étude de cette fluorescence. Nous avons dû tout d'abord isoler la rhaponticine (1) et mettre au point pour cela une méthode d'extraction commode. En possession d'une quantité suffisante de produit pur, nous avons étudié la sensibilité de certaines de ses réactions ; et ceci en vue de déceler les falsifications des préparations de Rhubarbe par le Rhapontic. Nous avons utilisé les réactions chimiques et l'examen de la fluorescence à la lumière de Wood par des procédés plus pratiques et plus sensibles que ceux existant jusqu'ici.

Enfin nous avons porté nos efforts sur un problème qui nous parut capital au point de vue théorique : La rhaponticine β glucoside indiscutablement lévogyre est jusqu'ici demeurée non hydrolysable par l'émulsine, échappant ainsi à la « loi » de BOURQUELOT.

(1) D'après la nouvelle nomenclature : rhaponticoside.

Notre but fut donc d'essayer de réaliser cette hydrolyse afin d'obtenir une aglycone n'ayant jamais subi l'action des réactifs chimiques et d'en étudier la constitution. Mais les difficultés auxquelles nous nous sommes heurté pour réaliser cette hydrolyse et la lenteur avec laquelle elle s'effectue exigèrent de long mois et la génine une fois isolée, le temps nous manqua pour en faire l'étude.

Celle-ci fera peut-être l'objet d'un travail ultérieur.

Nos recherches seront exposées dans l'ordre suivant :

PREMIÈRE PARTIE :

Données antérieures relatives :

1. A la composition chimique des Rhapontics.
2. Aux méthodes chimiques ayant pour but de déceler les falsifications de la Rhubarbe et de ses préparations par le Rhapontic.
3. Aux méthodes poursuivant le même but mais utilisant la fluorescence en lumière de Wood.

DEUXIÈME PARTIE :

1. Extraction de la rhaponticine et des autres constituants cristallisables du Rhapontic.
2. Etude des principales propriétés de la rhaponticine.
 - a) Constantes physiques.
 - b) Réactions colorées.
 - c) Fluorescence.
 - d) Hydrolyse acide.
 - e) Hydrolyse biochimique.
 - f) Etude des principales propriétés de l'aglycone.
 - g) Comparaison des spectres de fluorescence et d'absorption dans l'ultra-violet de la rhaponticine, de la rhapontigénine et de la poudre de Rhapontic.

TROISIÈME PARTIE :

Recherche des falsifications de la Rhubarbe et de ses préparations par le Rhapontic.

1. Méthode utilisant une réaction colorée de la rhaponticine.

2. Méthode utilisant la fluorescence de la rhaponticine en lumière de Wood.

CONCLUSIONS.

Avant d'exposer les résultats obtenus dans ce travail, j'assure M. le Professeur A. GORIS de toute ma respectueuse gratitude. Il m'a proposé le sujet de cette thèse et m'a fait le grand honneur de m'admettre dans son laboratoire. Il n'a jamais cessé de me conseiller et de m'encourager au cours de ce travail.

Je prie M. le Professeur Em. PERROT de trouver ici le témoignage de ma très respectueuse reconnaissance. Chaque fois que j'ai dû faire appel à sa vaste érudition j'ai toujours trouvé auprès de lui l'accueil le plus bienveillant.

Je remercie M. le Professeur agrégé M. MASCRÉ d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je dois à M. M.-M. JANOT d'avoir mené à bien ce travail. Il sut me faire partager son enthousiasme pour la recherche. Il sait l'affection reconnaissante que je lui garderai toujours.

Il m'est agréable d'exprimer ma gratitude à mon camarade R. POTTIER dont l'esprit critique me fut toujours si précieux.

Je remercie Mademoiselle N. ZELEANU de l'aide amicale que j'ai trouvée auprès d'elle lors de mes traductions d'allemand.

Enfin je n'oublierai pas l'atmosphère de sympathie et de franche camaraderie que j'ai toujours rencontrée auprès de mes camarades de laboratoire : Mlles M. BERNIER, J. FOURMONT, Y. BREUGNOT, MM. A. BERMONT, CANAL, E. CIONGA, P. FAUDEMAY, F. GALLAIS, J. LAURIN, H. TRISTANT.

PREMIÈRE PARTIE.

PREMIER CHAPITRE.

Données antérieures relatives à la composition chimique des Rhapontics.

HORNEMANN (1) en 1822, isola du *Rheum Rhaponticum* L. une substance cristallisable qu'il essaya de purifier par cristallisation dans l'alcool. Il la trouva dans une proportion de 1,04 p. 100 et lui donna le nom de *Rhaponticine*.

WEPPEM (2) ne reconnut pas l'individualité chimique de la rhaponticine et prétendit que la substance isolée par HORNEMANN n'était autre qu'un mélange d'acide chrysophanique et de résines.

HESSE en 1899, puis TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI en 1905 montrèrent que les conclusions de WEPPEM étaient erronées et que le produit isolé par HORNEMANN était bien de la rhaponticine, mais fortement souillée de résines. Cependant, HESSE considérant d'une part que les

(1) ~~VON HERN~~ G. L. HORNEMANN. — Ueber die Verwechselung der Wurzeln der Rhabarber mit denen der Rhapontik, neft einen Auszuge aus meinen Analysen mehrerer Rhabarbersorten und der Rhapontik Wurzel. *Berl. Jahrb. f. d. Pharm.*, 1822, **23**, 252-286.

(2) WEPPEM. — *Handwörterb. d. Chem.*, **6**, p. 827. (In O. HESSE).

données de WEPPEM devaient être rejetées et d'autre part que la rhaponticine de HORNEMANN était impure, s'attribua la paternité de la découverte de ce glucoside et l'appela *Rhapontine*. Par la suite TSCHIRCH et CRISTOFOLLETTI l'accusèrent « d'avoir découvert la rhaponticine pour la deuxième fois ».

En 1903 GILSON ignorant sans doute les travaux antérieurs, publia sous le titre de : « Sur un nouveau glucoside : *La Ponticine* », ses recherches sur la Rhubarbe d'Autriche.

Ainsi, à cause de l'ignorance ou de la négligence des auteurs la rhaponticine se trouvait découverte pour la troisième fois et le même produit malheureusement désigné par trois noms différents.

GILSON établit le premier la composition centésimale de la rhaponticine permettant de poser l'équation de son dédoublement par hydrolyse acide. Par la suite ses travaux furent repris par plusieurs auteurs, en particulier par TSCHIRCH et ses élèves, par HESSE et par HOLMSTRÖM.

Cependant à l'heure actuelle, la constitution chimique de la rhaponticine n'est pas complètement connue ; son noyau n'est même pas identifié.

Les travaux des auteurs ont porté sur des *Rheum* à rhaponticine d'origine souvent différente, dont la teneur en rhaponticine est très variable et la présence ou la proportion des autres éléments plus ou moins constantes.

Premiers travaux de HESSE :

HESSE (1) montra en 1899 par l'identité de ses recherches sur les racines de Rhapontic et de Rhubarbe autrichienne que ces drogues étaient fournies par la même espèce de Rheum : le *Rheum Rhaponticum* L. qui pousse en Moravie. De là viennent dans le commer-

(1) O. HESSE. — Über Rhabarberstoffe und damit verwandte Körper. *Liebig's Ann.*, 1899, **309**, 32-75.

ce sous le nom de *Radix Rhei Austriaci* le rhizome et les grosses racines et sous le nom de *Radix Rhei Rhapontici* les racines plus minces. Les noms de *Radix Rhei Anglici* et de *Radix Rhei Gallici* s'appliquent à des drogues provenant aussi de la même espèce : le *Rheum Rhaponticum* L., cultivé en Angleterre et en France, principalement dans la Drôme. Cependant depuis 1873 on cultive en Angleterre le *Rheum officinale* H. BN. qui est fâcheusement désigné dans le commerce sous le même nom de *Radix Rhei Anglici*, mais qui est une Rhubarbe vraie ne contenant pas de rhaponticine.

HESSE attribua en 1899 à la « rhapontine » qu'il isola la formule $C^{22}H^{24}O^9$ et obtint par hydrolyse acide de ce glucoside des résultats douteux. Ces derniers ne correspondant pas à ceux qu'obtinrent par la suite GILSON, TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI puis TSCHIRCH et EDNER, il reprit ses recherches dont il publia les résultats en 1908.

Travaux de GILSON :

GILSON (1) donne sur l'origine des *Rheum* qu'il a utilisés les précisions suivantes : « Il résulte des renseignements qui nous ont été obligeamment fournis par MM. CAESAR et LORETZ, de Halle, que la Rhapontique et la Rhubarbe d'Autriche que nous avons analysées proviennent l'une et l'autre d'une même plante qui est cultivée en Moravie. C'est paraît-il une variété hybride des *Rheum Rhaponticum* L. et *Rheum undulatum* L.. Les rhizomes et les grosses racines sont vendues sous le nom de Rhubarbe d'Autriche et les petites racines sous celui de Rhapontique ».

Il s'ensuit que GILSON et HESSE ont très vraisemblablement travaillé sur la même drogue.

L'auteur extrait le glucoside en épuisant le Rhapontic

(1) E. GILSON. — Sur un nouveau glucoside : La Ponticine. *Bull. de l'Acad. roy. de med. de Belg.*, 28 mars 1903.

en poudre à quatre reprises par l'acétone à froid, chaque fois à 2 jours d'intervalle. L'acétone est ensuite distillée jusqu'à ce que le résidu d'évaporation commence à cristalliser. Ces cristaux sont recueillis sur un filtre et lavés à l'acétone.

Le reste de la rhaponticine est extrait de la solution acétonique mère et des acétones de lavage par deux concentrations successives à une densité de 1.000. Après la première concentration la rhaponticine est précipitée d'abord par un mélange à parties égales d'acétone et d'éther puis par de l'éther pur. Après la deuxième concentration elle est précipitée par un mélange à parties égales d'acétone et de benzène puis par du benzène pur. Dans les deux cas il se sépare un liquide huileux dont la cristallisation est complète au bout de quelques jours.

Les produits obtenus ainsi et par simple concentration de la solution acétonique sont purifiés par cristallisations successives après concentration dans un mélange contenant 60 parties d'acétone et 40 parties d'eau, puis finalement par un traitement au noir animal dans ce même mélange.

GILSON obtient ainsi des cristaux incolores fondant en se décomposant vers 231°.

Toutefois il faut, conseille-t-il, opérer avec précaution, car une solution incolore prend une teinte jaunâtre sous l'action de la chaleur et les cristaux que l'on obtient sont eux-mêmes colorés.

L'auteur étudie ensuite quelques propriétés du produit pur : cristallographie, solubilité, réactions colorées, hydrolyse acide.

Il réalise cette dernière opération par l'acide sulfurique à 5 p. 100 et fait varier la quantité d'acide et le temps de chauffe suivant qu'il veut obtenir la totalité du sucre en vue d'un dosage, ou au contraire isoler simplement l'aglycone avec un minimum d'altération.

Il identifie le sucre avec le *d* glucose et isole la « pontigénine » après épuisement par l'éther du liquide d'hy-

drolyse refroidi, évaporation de l'éther et purification du résidu par cristallisation dans l'alcool méthylique. Il étudie quelques propriétés physiques et réactions colorées de cette « pontigénine » fusible à 187°5.

Il procède ensuite par hydrolyse sulfurique à un dosage pondéral très « audacieux » du glucose et de la « pontigénine ». Les résultats obtenus, ainsi que ceux fournis par les combustions et les déterminations cryoscopiques effectuées sur l'aglycone, lui permettent d'établir de la façon suivante l'équation du dédoublement de la rhaponticine :



GILSON ne pousse pas plus avant l'étude de la constitution chimique de la « pontigénine ». Ses conclusions sont les suivantes :

« Il résulte des faits que nous venons d'exposer qu'il existe des différences considérables entre les diverses variétés de Rhubarbe au point de vue des tannoïdes qu'elles contiennent.

La variété dans laquelle nous avons retrouvé la pontigénine ne contient aucun des tannoïdes que nous avons isolés de la Rhubarbe de Chine (1). Quoique nous ne connaissions pas la constitution de la pontigénine nous pouvons cependant affirmer qu'elle n'appartient pas au groupe des oxyméthylanthrachinones. Elle possède des propriétés qui rappellent les phénols polyvalents ou les acides phénols qui donnent naissance aux tanins.

La pontigénine trouvera donc probablement sa place parmi les glucotannoïdes.

Notons encore pour terminer, que nous avons constaté la présence dans la Rhapontique de glucosides dérivés de l'oxyméthylanthrachinone. Nous avons obtenu ces glucosides à l'état cristallisé ».

(1) E. GILSON. — Les Tannoïdes de la Rhubarbe de Chine. *Bull. de l'Acad. roy. de Med. de Belg.*, 27 décembre 1902.

Travaux de TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI (1) :

En 1905 ces auteurs analysent deux Rhapontics : le premier est un produit commercial venant d'Autriche, l'autre est constitué par du *Rheum Rhaponticum* L. cultivé au jardin botanique de Berne.

1) *Rhubarbe autrichienne*. — La drogue grossièrement pulvérisée est soumise au percolateur à deux séries d'épuisements ; les premiers avec de l'alcool à 70°, les seconds avec de l'alcool à 95°.

A) Les liquides alcooliques obtenus de l'extraction à l'alcool à 70°, sont concentrés en extrait très fluide et ce dernier est agité à plusieurs reprises avec de l'éther.

L'addition d'éther provoque l'apparition d'un précipité fortement coloré. Après 6 agitations il ne se produit plus de précipitation par addition d'éther. Les précipités recueillis sur un filtre apparaissent entièrement cristallisés.

Les cristaux sont lavés d'abord à l'éther puis à l'alcool à 95°, dissous dans l'alcool à 70° et la solution précipitée par addition d'eau distillée. Ces opérations sont répétées jusqu'à ce que l'eau soit incolore.

Le précipité obtenu est constitué par des cristaux jaunâtres très brillants. Enfin par cristallisations successives dans l'alcool dilué après action du noir à animal on obtient des cristaux incolores.

Ces cristaux séchés à 110° fondent à 231°. Ils possèdent les réactions colorées et les caractères de solubilité de la rhaponticine. L'analyse élémentaire permet de leur attribuer la formule $C^{21}H^{24}O^8$, et l'application de la méthode de ZEISEL révèle la présence d'un groupement méthoxyle. Soit : $C^{20}H^{21}O^8(OCH^3)$.

TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI extraient ainsi de leur Rhapontic 1,42 p. 100 de rhaponticine dont la formule

(1) A. TSCHIRCH et U. CRISTOFOLETTI — Ueber die Rhaponticewurzel, *Arch. der. Pharm.*, 1905, **243**, 443-457.

correspond à celle de GILSON mais non à celle de HESSE.

Ils obtiennent par acétylation un dérivé diacétylé sous forme de petites aiguilles incolores fondant à 138° et répondant à la formule : $C^{21}H^{22}O^9 (C^2H^3O)^2$.

Ils procèdent ensuite à l'hydrolyse de la rhaponticine par l'acide sulfurique à 10 p. 100 en chauffant le mélange jusqu'à apparition d'un trouble. Le liquide est alors refroidi rapidement et agité avec de l'éther.

Le *d.* glucose est caractérisé dans la solution aqueuse après neutralisation de l'acide sulfurique par le carbonate de baryum. La rhapontigénine est extraite de la solution éthérée.

Dans ce but cette dernière est distillée dans le vide et il reste un résidu constitué par une masse cristalline jaune clair. Par cristallisation dans l'alcool méthylique après action du charbon animal, on obtient un produit incolore sous forme de belles aiguilles fondant à 180°-181°. Ce corps possède les réactions colorées et les caractères de solubilité de la rhapontigénine. L'analyse élémentaire lui attribue la formule : $C^{17}H^{22}O^3$.

Il contient un groupement méthoxyle : $C^{16}H^{19}O^2 (OCH^3)$.

Par benzoïlation il donne un dérivé dibenzoylé fondant à 145°-146° : $C^{16}H^{17}O^2 (OCH^3) (C^6H^5CO)^2$, et par acétylation un corps fondant à 110°-112° que l'analyse élémentaire permet de considérer comme un diacétate contenant une molécule d'acide acétique de cristallisation : $C^{17}H^{20}O^3 (CH^3CO)^2 + CH^3COOH$.

À la suite de ces expériences TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI attribuent à la rhapontigénine la formule : $C^{16}H^{17} (OH)^2 (OCH^3)$.

Bien que cette formule ne corresponde pas à celle de GILSON et ne permette pas d'établir l'équation du dédoublement de la rhaponticine, TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI la considèrent cependant comme étant la seule exacte parce qu'elle est confirmée par la formation du dérivé benzoylé, que leur rhapontigénine est parfaitement incolore et qu'elle possède un point de fusion bien déterminé.

B) Des liquides alcooliques provenant des épuisements par l'alcool à 95° TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI isolent plusieurs dérivés de l'anthraquinone :

1° *Un acide chrysophanique* cristallisé jaune doré fondant à 181°-182° : $C^{15}H^{10}O^4$ et contenant 1,48 p. 100 de méthoxyle.

Les auteurs montrent que les différences entre les points de fusion des acides chrysophaniques isolés de divers *Rheum* sont liées à la quantité de méthoxyle qu'ils contiennent : le point de fusion étant d'autant plus bas que la proportion de méthoxyle est plus élevée et l'acide chrysophanique pur ne contenant pas de méthoxyle. Le tableau suivant en fait foi :

P. F.	OCH ³ p. 100	
162°	5,15	(HESSE)
162°	3,26	(ELKEN)
175-176°	2,01	(CRISTOFOLETTI)
176°	1,35	(HENBERGER)
181-182°	1,48	(CRISTOFOLETTI)
182-184°	1,03	(HESSE)
196°	0	

2° *Le tétrahydrométhoxychrysophanol* ou tétrahydrométhoxydioxyméthylantraquinone. Corps jaune doré, non cristallisé, fondant à 216° et répondant à la formule : $C^{15}H^{11}O^2 (OH)^2 (OCH^3)$.

3° *Un anthraglucoside* qui donne à l'hydrolyse du *d.* glucose et un tétrahydrométhylechrysophanol ou tétrahydrodioxyméthylantraquinone. Ce dernier corps se présente sous forme de cristaux rouge orange fondant à 195°-196° et répondant à la formule : $C^{16}H^{16}O^4$.

4° *Du rouge de Rhubarbe* et de la *Rhéonigrine*, qui pour les auteurs sont vraisemblablement des produits de polymérisation des oxyméthylantraquinones.

5° Ils constatent l'absence de *rheine* et d'*émordine*.

II) *Rheum Rhaponticum* L. du jardin botanique de Berne. — La drogue soumise au même traitement que la précédente se montre encore moins riche en dérivés de l'anthraquinone.

Elle contient :

- 1° De la rhaponticine.
- 2° Un acide chrysophanique fondant à 175°-176°.
- 3° De très faibles quantités d'anthraglucoside, de rouge de Rhubarbe et de Rhéonigrine.
- 4° Elle ne contient pas de tétrahydrométhoxychrysophanol, de rheine, ni d'émodyne.

A la suite de ces travaux TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI concluent que le Rhapontic a beaucoup moins de valeur que la Rhubarbe car il ne contient ni l'émodyne, ni son glucoside ; quant à l'acide chrysophanique son action purgative est secondaire.

Travaux de TSCHIRCH et EDNER :

TSCHIRCH et EDNER (1) en 1907 ont étudié une Rhubarbe française dont ils n'ont pas indiqué l'origine botanique, leur analyse ayant justement pour but d'en déterminer l'espèce.

Ils ont conclu qu'il s'agissait d'une racine de Rhapontic.

Ils traitent la drogue comme l'avait fait TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI et isolent :

- 1° La rhaponticine en cristaux incolores fondant à 230°, de formule $C^{21}H^{24}O^9$.

Ils isolent et purifient la rhapontigénine et obtiennent un produit cristallisé en aiguilles incolores fondant à 180° auquel l'analyse attribue encore la formule : $C^{17}H^{22}O^3$.

(1) A. TSCHIRCH und J. EDNER. — Ueber den englischen und französischen Rhabarber. *Arch. der Pharm.*, 1907, **245**, 139-149.

2° Un acide chrysophanique $C^{15}H^{10}O^4$ en cristaux jaunes, fondant à 183° .

3° La chrysopontine $C^{16}H^{16}O^5$, P. F. 214° .

D'après les auteurs la tétrahydrométhoxyméthylantraquinone trouvée par TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI dans la Rhubarbe autrichienne est très probablement identique à cette chrysopontine et elle a des rapports étroits avec la rhéochrysidine isolée par GILSON de la Rhubarbe de Chine (1).

4° Ils ne trouvent ni émodine, ni rhéine et concluent que la Rhubarbe française qu'ils ont analysée est constituée par du Rhapontic.

Deuxièmes travaux de HESSE :

HESSE (2) analyse en 1908 des produits de même origine que ceux étudiés en 1899 à savoir : le *Radix Rhei Rhapontici* et le *Radix Rhei Austriaci*.

1° *La rhaponticine*. — La drogue réduite en poudre fine est épuisée au Soxhlet d'abord avec de l'éther pendant 45 heures, puis avec de l'acétone pendant 6 heures.

La rhaponticine contenue dans le résidu d'évaporation de la solution éthérée est débarrassée des impuretés qui l'accompagnent, en particulier de l'acide chrysophanique par le benzène à l'ébullition, solvant dans lequel la rhaponticine est insoluble. Le produit ainsi obtenu est ensuite dissous dans une solution d'hydrate de chaux puis régénéré de sa combinaison calcaire par l'acide acétique. Il est finalement purifié par plusieurs cristallisations dans l'acide acétique dilué.

La rhaponticine contenue dans le résidu d'évaporation de l'acétone est d'abord soumise à des dissolutions et à

(1) E. GILSON. — Les principes purgatifs de la Rhubarbe de Chine. *Mem. dep. à l'Acad. roy. de Belg. pour l'obtention du prix Alvarenga*. 15 janvier 1905.

(2) O. HESSE. — Ueber die Rhapontikwurzel und die österreichische Rhabarber. *J. Prakt. Chem.*, 1908, **77**, 321-352.

des cristallisations successives dans le mélange de GILSON (60 parties d'acétone, 40 parties d'eau), puis la purification est continuée comme dans le premier cas.

La quantité totale de rhaponticine ainsi extraite est d'après HESSE de 4,3 p. 100. -

Enfin l'auteur obtient une rhaponticine absolument pure à partir du produit précédent en faisant le dérivé acétylé. Ce dernier est saponifié en solution alcoolique par la potasse ; la solution obtenue saturée par l'acide acétique puis évaporée à une douce chaleur. La rhaponticine est finalement soumise à plusieurs cristallisations dans l'acide acétique dilué.

Le produit ainsi obtenu se présente en aiguilles incolores et fond entre 230° - 236° ; son pouvoir rotatoire en solution hydroacétonique au maximum de concentration en eau est : $[\alpha]_D = -63^{\circ}$.

L'analyse élémentaire permet d'attribuer à cette rhaponticine la formule : $C^{21}H^{24}O^9$.

Le pourcentage supérieur en carbone donné par Hesse en 1899 était dû, selon lui, à la présence d'une petite quantité « d'isorhapontigénine » dans sa rhaponticine.

L'acétylation de la rhaponticine par l'anhydride acétique conduit à la pentaacétylrhaponticine $C^{21}H^{19}O^9$ $(COCH^3)^5$ fondant à 95° .

En opérant l'acétylation en présence d'acétate de soude, HESSE n'obtient pas comme TSCHIRCH et CRISTOFOLLETTI une diacétylrhaponticine, mais l'hexaacétylrhaponticine : $C^{20}H^{15}O^8$ (OCH^3) $(COCH^3)^6$ qui fond à 138° .

HESSE procède à l'hydrolyse de la rhaponticine par l'acide sulfurique au réfrigérant à reflux. Pour 2 g. de glucoside il emploie 120 cm³ d'acide sulfurique à 5 p. 100 et fait bouillir pendant 35 minutes.

L'aglycone est ensuite extraite du liquide d'hydrolyse refroidi par agitation avec de l'éther, la solution étherée est traitée au noir animal puis évaporée. Finalement la rhapontigénine est purifiée par saponification de son dérivé acétylé et cristallisée dans l'alcool méthylique.

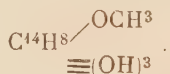
Le produit ainsi obtenu se présente en aiguilles incolores fusibles à 190°-191° ; l'analyse élémentaire lui attribue la formule : $C^{15}H^{14}O^4$ et l'application de la méthode de ZEISEL révèle la présence d'un groupement méthoxyle, soit : $C^{14}H^{11}O^3 (OCH^3)$.

Après avoir isolé et caractérisé le *d.* glucose dans le liquide d'hydrolyse HESSE est d'accord avec GILSON sur l'équation du dédoublement de la rhaponticine :



Par acétylation la rhapontigénine donne la triacétylrhapontigénine : $C^{15}H^{11}O^4 (CO CH^3)^3$ fondant à 112°.

La formule de la rhapontigénine mettant en évidence ses fonctions phénols est donc d'après HESSE :

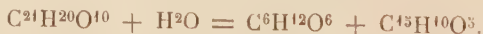


2° *Autres constituants du Rhapontic* : HESSE isole ensuite des résidus de distillation de l'éther et de l'acétone.

a) *De l'acide chrysophanique.* — $C^{15}H^{10}O^5$ P. F. 195-196° et probablement son éther méthylique.

b) *De la chrysarone.* — $C^{15}H^{10}O^5$ cristallisée en jaune brillant, P. F. 164° et son éther méthylique.

c) *De la glucochrysarone.* — $C^{21}H^{20}O^{10}$, glucoside cristallisé jaune d'or, donnant par hydrolyse sulfurique du *d.* glucose et de la chrysarone selon l'équation :



d) *De l'acide gallique.* — $C^7H^6O^5$.

e) *De l'acide rhapontique.* — $C^{17}H^{16}O^6$ ou $C^{21}H^{20}O^7$.

f) Enfin l'hydrolyse de certaines fractions au cours de l'extraction lui révéla la présence de Chrysophanine et de glucogalline.

Quant à la chrysopontine et à la chrysorhapontine rencontrées par d'autres auteurs elles correspondent respectivement d'après HESSE à la chrysarone et à l'acide chrysophanique.

Travaux de TSCHIRCH et RUSKOWSKI :

En 1913 TSCHIRCH et RUSKOWSKI (1) ont l'occasion d'analyser une Rhubarbe originaire du mont Altaï à la frontière Ouest de la Sibérie et de la Mongolie. Cette Rhubarbe est susceptible de donner un bon extrait.

L'échantillon dont ils disposent est à l'état sec mais porte encore des fruits. Ces derniers ont été envoyés au jardin botanique de Berne en vue de la détermination ultérieure de l'espèce. TSCHIRCH et RUSKOWSKI n'ont pas publié par la suite les résultats de cette détermination, mais ils considèrent leur Rhubarbe comme appartenant au groupe des Rhapontics dont le rhizome et les racines contiennent de la rhaponticine.

A) Ils extraient ce glucoside de la façon suivante :

La drogue grossièrement pulvérisée est épuisée au Soxhlet par l'alcool à 95° jusqu'à ce que ce dernier ne soit plus coloré. La solution alcoolique ainsi obtenue est concentrée à plusieurs reprises et après chaque concentration il se dépose un précipité qui est recueilli, lavé à l'eau puis desséché. Les précipités réunis sont traités par l'éther au Soxhlet jusqu'à ce que l'éther soit incolore. Le résidu insoluble dans l'éther se présente sous forme d'une poudre jaune pâle montrant au microscope de fines aiguilles de rhaponticine souillées d'impuretés.

La rhaponticine est extraite de ce résidu par cristallisations successives dans l'alcool à 10°, puis finalement purifiée par action du noir animal dans ce solvant et recristallisée dans l'alcool à 70°.

Le produit obtenu se présente en aiguilles incolores qui séchées à 110° fondent à 231°. Il possède les propriétés de la rhaponticine et l'analyse élémentaire permet de lui attribuer la formule : $C^{21}H^{24}O^9$.

(1) A. TSCHIRCH und M. RUSKOWSKI. — Ueber einen neuen Rhabarber vom Altaï. *Arch. der. Pharm.*, 1913, **251**, 121-136.

Les auteurs hydrolysent ensuite la rhaponticine par l'acide sulfurique à 10 p. 100 à l'ébullition, jusqu'à ce que le précipité qui se forme au bout d'une 1/2 heure environ soit complètement dissous et que le liquide soit redevenu limpide. Il apparaît au cours de l'hydrolyse un corps brun sous forme de gouttelettes huileuses qu'on sépare par filtration. Le filtrat refroidi est agité avec de l'éther, la solution étherée évaporée et le résidu de couleur jaune dissous dans l'alcool à 90°. La solution alcoolique également colorée en jaune est traitée au noir animal, évaporée à sec et le résidu d'évaporation repris par l'alcool à 90°. La solution alcoolique filtrée, cette fois incolore, est additionnée d'eau distillée jusqu'à apparition d'un louche. Après 24 heures de repos à l'obscurité il se dépose un corps cristallisé sous forme de longs prismes incolores ayant cependant tendance à se colorer légèrement en jaune. Ces cristaux possèdent les propriétés de la rhapontigénine ; desséchés à 120°, ils fondent à 180°-181° et l'analyse élémentaire leur attribue la formule $C^{17}H^{22}O^3$.

Le glucose est caractérisé dans le liquide d'hydrolyse épuisé par l'éther.

Cette formule de la rhapontigénine déjà trouvée par TSCHIRCH et ses élèves ne permet pas comme nous l'avons vu d'établir l'équation du dédoublement de la rhaponticine par formation d'une molécule de glucose.

TSCHIRCH et RUSKOWSKI ont ensuite essayé d'hydrolyser par l'émulsine la rhaponticine soit en suspension aqueuse, soit en solution dans la soude ou en solution alcoolique faible. Après un séjour de 24 heures à l'étuve à 35° ils n'observent de dédoublement dans aucun des trois essais précédents.

B) Des solutions étherées provenant, l'une de l'extraction par l'éther de la drogue préalablement traitée par l'alcool, l'autre de l'épuisement par l'éther au Soxhlet des précipités contenant la rhaponticine, les auteurs isolent :

1° Un acide chrysophanique contenant du méthoxyle et fondant à 175°. Cet acide pouvait être séparé en deux corps :

- a) Du chrysophanol ;
- b) L'éther monométhylque de l'émodine $\text{CH}^3\text{CH}^{14}\text{O}_2(\text{OH})^2\text{OCH}^3$ fondant à 200-202°.

2° De l'émodine $\text{C}^{15}\text{H}^{10}\text{O}^5$. P. F. 250°.

3° Deux groupes de glucosides :

- a) Des tannoglucosides ;
- b) Des anthraglucosides.

Par hydrolyse de ces glucosides on n'obtient que deux corps amorphes connus sous les noms de rouge de Rhubarbe et de Rhéonigrine, produits d'oxydation et de polymérisation des diverses aglycones.

La drogue contient 3,2 p. 100 d'oxyméthylanthraquinones totales.

TSCHIRCH et RUSKOWSKI concluent de leurs travaux que si par la présence de rhaponticine cette Rhubarbe du Mont Altaï doit être rangée dans le groupe des Rhapontics, elle ne doit pas être considérée à cause de sa teneur en oxyméthylanthraquinones comme une qualité inférieure.

Travaux de HOLMSTRÖM :

HOLMSTRÖM (1) en 1921 analyse la racine de *Rheum Emodi* Webb. du Jardin Botanique de Berne.

La drogue pulvérisée est épuisée au Soxhlet par l'alcool à 95°. Le résidu d'évaporation est abandonné au repos et il se produit une cristallisation. Les traitements ultérieurs sont effectués à des intervalles de plusieurs semaines pendant lesquels le résidu laissé de côté cristallise de nouveau. C'est ainsi que l'auteur observe après

(1) J. J. HOLMSTRÖM. — Untersuchung der Wurzeln von *Rheum Emodi* Webb. *Schw. Apoth. Ztg.*, 1921, **59**, 169-175 et 183-189.

2 ans 1/2 une cristallisation abondante dans un extrait alcoolique déjà soumis à plusieurs traitements.

Après chaque cristallisation les cristaux sont recueillis sur un filtre, lavés à l'eau tiède puis à l'alcool et finalement traités par une sorte de percolation par le benzène et le chloroforme jusqu'à ce que ces derniers ne soient plus colorés.

Les cristaux insolubles dans ces solvants sont soumis à des dissolutions et à des cristallisations successives dans l'alcool aqueux puis dissous à chaud dans l'acide acétique dilué et traités au noir animal. Finalement ils sont recristallisés dans l'eau bouillante.

HOLMSTRÖM obtient ainsi la rhaponticine en cristaux incolores fondant à 230° - 231° , à laquelle l'analyse élémentaire lui permet d'attribuer la formule $C^{21}H^{24}O^9$. L'application de la méthode de ZEISEL révèle la présence d'un groupement méthoxyle soit : $C^{20}H^{21}O^8(OCH^3)$.

Les résultats que l'auteur obtient par la suite en étudiant la constitution chimique de ce corps, correspondent en partie aux travaux de TSCHIRCH et de ses élèves, en partie aux travaux de HESSE, travaux qu'il ne cite d'ailleurs pas.

C'est ainsi que par acétylation de la rhaponticine HOLMSTRÖM obtient comme HESSE, la pentaacétylrhaponticine et l'hexaacétylrhaponticine et par benzylation l'hexabenzoylrhaponticine.

L'hydrolyse sulfurique de la rhaponticine lui permet de caractériser d'une part le *d.* glucose et d'autre part la rhapontigénine. Il obtient cette dernière sous forme de belles aiguilles incolores fondant à 180° - 181° , mais dont la composition centésimale : $C^{15}H^{12}O^3(OCH^3)$ ne lui permet pas d'établir l'équation de dédoublement de la rhaponticine.

L'auteur prétend d'ailleurs que les résultats de l'analyse élémentaire dépendent directement de la manière dont l'hydrolyse est conduite, car il a obtenu par des hydrolyses différentes des résultats différents. Les chiffres qu'il donne correspondent à un pourcentage en carbone

encore supérieur à C^{16} . Il paraît donc probable qu'HOLMSTRÖM a, comme TSCHIRCH et ses élèves, analysé un produit impur, et cela sans doute comme l'a précisé HESSE, parce que les produits d'hydrolyse sulfurique de la rhaponticine contiennent toujours une impureté difficile à éliminer, impureté vraisemblablement constituée par un produit de désagrégation de la rhapontigénine elle-même.

Par acétylation de la rhapontigénine HOLMSTRÖM obtient une tétraacétylrhapontigénine :

$C^{16}H^{11}O^4(COCH^3)^4$ fondant à 112°

et par benzylation une tétrabenzoylrhapontigénine :

$C^{16}H^{11}O^4(COCH^5)^4$ fondant à 147° .

Dans ces conditions la rhapontigénine posséderait quatre oxhydroyles.

HOLMSTRÖM ne parvient pas à hydrolyser la rhaponticine par les ferments.

De la partie soluble dans le benzène et dans le chloroforme HOLMSTRÖM isole :

1° De l'acide chrysophanique contenant du méthoxyle.

2° De l'émodine libre en très petite quantité.

3° Un corps fondant à 211° auquel l'analyse élémentaire permet d'attribuer la formule $C^{22}H^{22}O^{10}$ et qui, d'après l'auteur, correspond vraisemblablement à la rhéochrysine isolée par GILSON de la Rhubarbe de Chine, bien que le point de fusion trouvé par ce dernier ne soit que de 204° .

A la suite de ses recherches HOLMSTRÖM conclut que la racine de *Rheum Emodi* Webb appartient au groupe du Rhapontic et ne doit pas être substituée à la véritable Rhubarbe.

En 1925 RUSKOWSKI (1), étudiant des *Rheum* cultivés en Pologne, montre la présence de rhaponticine dans le *Rheum Rhaponticum* L., le *Rheum Emodi* Wall.,

(1) RUSKOWSKI. — Beitrag zum studium in Polen Kultivierten Rhubarber. *Sprawozdania z. Prac. Państwowego Instytutu farmaceutycznego.*, 1925 12 Seiten Sep. In C. C., 1930, 1, 1339-1340.

le *Rheum undulatum* L. et son absence dans le *Rheum palmatum* L., le *Rheum tanguticum* L. et un échantillon de Rhubarbe de Chine.

En 1930, KONNERTH et SCHOETZOW (1), montrèrent qu'une Rhubarbe vendue dans le commerce sous le nom de Rhubarbe de Turquie contenait de la rhaponticine et ainsi qu'il ne s'agissait pas, comme on le croyait, d'une Rhubarbe de Chine exportée de Russie en passant par la Turquie.

Enfin en 1933 GHOUSE et TUMMIN KATTI (2) isolèrent du *Rheum Emodi* Wall fournissant la Rhubarbe commerciale dite de l'Inde ou de l'Himalaya :

1° De la rhaponticine $C^{21}H^{24}O^9$ cristallisant en prismes incolores fondant à 233° - 235° , et contenue dans la drogue dans la proportion de 1 p. 100.

2° De l'acide chrysophanique $C^{15}H^{10}O^4$ en tablettes jaune d'or fondant à 194 - 195° , dérivé acétylé : P. F. 256 - 257° .

3° De la rhéine $C^{15}H^8O^6$ en aiguilles oranges fondant à 320 - 321° et donnant un dérivé acétylé à P. F. 256° - 257° .

4° de l'émodine $C^{15}H^{10}O^3$, P. F. 254° - 255° , dérivé acétylé P. F. 197° - 198° .

5° Le glucoside de l'acide chrysophanique P. F. 204° - 205° .

6° Un mélange de glucosides anthraquinoniques.

Ainsi, en dehors de la présence de la rhaponticine cette Rhubarbe est celle qui par sa composition chimique se rapproche le plus des Rhubarbes officinales ; son action pharmacodynamique est à l'étude.

Il résulte de ces divers travaux que la rhaponticine existe dans diverses espèces de Rheum, que ces derniers

(1) R. A. KONNERTH and R. E. SCHOETZOW. — « Turkish » Rhubarb. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1930, **19**, 31-32.

(2) M. GHOUSE Mohiuddin und M. C. TUMMIN KATTI. — Rhaponticin und Anthrachinon derivate aus *Rheum Emodi* Wall. (Indischer oder Himalaya Rhabarber). *J. Indian Inst. Sc.*, 1933, **16**, 1-9. In *C.C.*, 1933, **2**¹, 1059.

ont des compositions chimiques qualitativement et quantitativement différentes et que la teneur en rhaponticine elle-même est extrêmement variable.

La proportion des oxyméthylanthraquinones totales est insuffisante pour déterminer la nature d'une Rhubarbe ; elle ne suffit d'ailleurs pas, même pour une Rhubarbe vraie à expliquer la puissance de l'action purgative. Un seul caractère reste constant : l'absence de rhaponticine chez les Rhubarbes vraies à action purgative à la fois énergique et douce justifiant leur emploi officinal ; la présence de ce glucoside chez tous les autres *Rheum* désignés sous le nom général de Rhapontic et qui doivent être réservés à l'usage vétérinaire.

La constitution chimique de la rhaponticine n'est pas définitivement établie. Tous les auteurs ne sont même pas d'accord sur la formule centésimale de l'aglycone. Cependant il n'est pas douteux que la formule attribuée par GILSON et par HESSE à la rhapontigénine doit être considérée comme plus exacte que celle donnée par TSCHIRCH et ses élèves et HOLMSTRÖM. C'est en effet la seule qui permette d'établir l'équation du dédoublement de la rhaponticine, et c'est également comme nous le verrons au cours de ce travail, celle que l'analyse nous autorisera à attribuer à la rhapontigénine obtenue cette fois par hydrolyse biochimique.

DEUXIÈME CHAPITRE.

Données antérieures relatives aux méthodes chimiques utilisant des réactions de la rhaponticine pour déceler le Rhapontic dans les préparations de Rhubarbe.

TSCHIRCH (1) et CRISTOFOLETTI (2) publièrent pour la première fois en 1905 un procédé permettant de distinguer la poudre de Rhubarbe de celle de Rhapontic. Ce procédé est fondé sur la présence de la rhaponticine dans les racines de Rhapontic, sur la solubilité de ce glucoside dans l'alcool faible et son insolubilité dans l'éther.

La technique est la suivante : On fait bouillir pendant 1/4 d'heure 10 g. de la racine ou de la poudre à étudier avec 50 cm³ d'alcool dilué et on filtre. Le filtrat est évaporé à 10 cm³ et agité avec 10 ou 15 cm³ d'éther. Après 24 heures l'extrait de vraie Rhubarbe est encore limpide, celui du Rhapontic au contraire abandonne un dépôt cristallin constitué par des prismes incolores en forme d'aiguilles comme le montre l'examen microscopique.

(1) TSCHIRCH. — Ein einfaches Mittel, Rhapontic von Rhubarber zu unterscheiden. *Schweiz. Wochenschrift d. ch. u. Pharm.*, 1905, **43**, 252-253.

(2) U. CRISTOFOLETTI. — Studien über Rheum Rhaponticum. *Inaugural dissertation der Philosophischen Fakultät der Universität Bern. Bächler et Co. Bern.* 1905, 63 p., 5 fig.

pique. Ce dépôt s'accroît peu à peu de telle sorte que le fond du tube est recouvert d'une couche cristalline. Cette dernière est constituée par de la rhaponticine qu'on identifie par ses caractères propres : forme cristallographique, solubilité et réactions colorées dont la plus sensible est la coloration rouge orange intense par l'action de l'acide sulfurique concentré.

Ce procédé qui permet de distinguer le Rhapontic pur de la Rhubarbe pure se révèle nettement insuffisant et ne donne plus que des résultats douteux lorsqu'on est en présence d'un mélange des deux drogues.

JUILLET (1) qui en 1913 reprit cette question, exposa les critiques que lui suggéra l'application de la méthode de TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI, tant au point de vue de sa technique que de sa sensibilité.

« Il est à regretter dit-il, que cette méthode manque de précision et en s'abstenant de donner le titre exact de l'alcool à employer, les auteurs exposent à de fréquentes erreurs. Un alcool de titre trop faible, 40° par exemple, entraîne au cours de l'ébullition une gélification très avancée de l'amidon qui rend presque impossible la filtration, tandis qu'avec un alcool trop fort la cristallisation est souvent douteuse ».

Les nombreux succès qu'il enregistra dans l'application stricte du procédé de TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI amenèrent JUILLET à le modifier assez avantageusement. Sa technique est la suivante :

« On place dans une ampoule à lixiviation 10 g. de poudre que l'on épuise lentement à froid par de l'alcool à 60° jusqu'à obtention de 25 g. de teinture. Cette dernière qui doit être absolument limpide est filtrée au besoin. On évapore au bain-marie à 80° jusqu'à 7 g. d'extract que l'on verse dans un tube à essai avec 10 cm³ d'éther ; on agite vigoureusement et on abandonne au repos.

(1) A. JUILLET. — Recherche de la poudre de Rhapontic dans la poudre de Rhubarbe. *Bull. Pharm. du S. E.* 1913, **18**, 137-139.

Si la poudre est du Rhapontic pur un dépôt cristallin brunâtre et abondant apparaît en moins de 4 heures au fond du tube. Avec un mélange de poudre de Rhapontic et de Rhubarbe la cristallisation est plus lente ; elle est complète après 24 heures pour un mélange de 75 g. de Rhapontic et de 25 g. de Rhubarbe ; elle commence à apparaître alors et se poursuit pendant plusieurs jours pour des mélanges à parties égales ou à 25 g. de Rhapontic pour 75 g. de Rhubarbe.

Si un doute subsiste sur la nature de ces cristaux il suffit de les recueillir sur un filtre, de les laver avec un peu d'eau froide et d'effectuer quelques unes des réactions indiquées par TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI ».

BRANDT (1) a pu par ce procédé déceler dans la poudre de Rhubarbe des falsifications à 50 et même à 25 p. 100 par le Rhapontic.

TUNMANN (2) publia en 1918 la méthode suivante basée sur l'insolubilisation de la rhaponticine par l'eau de brome :

1 g. de poudre est agité fortement pendant 1/4 d'heure avec 150 g. d'eau dans un Erlenmeyer de 200 cm³. On filtre ensuite sur un filtre à plis. En général, le filtrat de Rhapontic a une couleur plus claire (jaune citron) que celui de Rheum chinois (jaune orangé). 3 cm³ environ de chacun des deux filtrats sont traités par 3 gouttes d'eau de brome ou mieux d'une solution de brome et de bromure de potassium. Dans ces conditions, le filtrat de Rhapontic donne immédiatement un trouble puis un précipité blanc tandis qu'on n'observe aucun changement dans celui de Rhubarbe de Chine.

JOACHIMOVITZ (3) qui fit une critique très complète des différents procédés de recherche du Rhapontic dans

(1) W. BRANDT. — Prüfung und Wertbestimmung von Rhizoma Rhei, *Pharm. Ztg.*, 1922, **67**, 508-509 et 520-522.

(2) O. TUNMANN. — Zur Unterscheidung von Rhapontic und Rheum, *Pharm. Post.*, 1918, **51**, 605-608.

(3) M. JOACHIMOVITZ. — Die Unterscheidung von Rheum Rhaponticum und Rheum chinense, *Pharm. Monat.*, 1924, **5**, 134-136.

la Rhubarbe, reconnaît que la solution de brome et de bromure de potassium est un réactif très sensible de la rhaponticine qu'elle précipite d'une solution aqueuse très diluée. D'après lui la méthode de TUNMANN, insuffisante pour déceler une falsification dans un mélange, doit se recommander à cause de sa simplicité dans la plupart des cas où il s'agit seulement de différencier une poudre de Rhubarbe pure d'une poudre de Rhapontic pur. Cependant, même dans ces conditions elle ne présente pas une sécurité absolue, car en appliquant cette méthode à un grand nombre de Rheum JOACHIMOVITZ a pu constater que certaines Rhubarbes de Chine véritables donnaient une réaction fortement positive, tandis que des mélanges de Rhubarbe et de Rhapontic donnaient une réaction négative.

JOACHIMOVITZ montra également qu'en modifiant la méthode de TSCHIRCH de la façon suivante : traitement à chaud par l'éther de la poudre, reprise par l'alcool à 60° et cristallisation de la rhaponticine dans ce dernier solvant, on ne pouvait pas identifier avec certitude le Rhapontic dans un mélange avec la Rhubarbe, même dans la proportion de 50 p. 100.

L'auteur essaya encore d'utiliser la propriété que possède la rhaponticine de ne précipiter qu'à la longue de ses solutions aqueuses ou faiblement alcooliques par l'acétate neutre de plomb, alors qu'elle précipite immédiatement de ces mêmes solutions par l'acétate basique. Ce procédé qui permettrait ainsi une purification aisée et rapide de la rhaponticine par élimination des autres substances par l'acétate neutre de plomb, n'a donné de bons résultats que pour l'identification du Rhapontic pur. En présence d'un mélange avec la Rhubarbe il s'est révélé nettement insuffisant.

Enfin, à la suite de nombreux essais, JOACHIMOVITZ a mis au point un procédé fort long mais d'après lui très sensible. L'application de ce procédé est d'autant plus longue que la falsification est plus faible.

La méthode de JOACHIMOVITZ est en effet constituée par une série d'essais de plus en plus sensibles qui doivent être effectués l'un après l'autre avant de permettre de conclure à la pureté de la poudre de Rhubarbe.

1° L'auteur conseille de rechercher d'abord si on ne se trouve pas en présence d'une poudre de Rhapontic pur ou du moins d'une poudre de Rhubarbe très riche en Rhapontic. On peut utiliser pour cela l'un des deux procédés suivants :

a) 50 centigrammes de poudre sont agités pendant 1/4 d'heure à la température de 25 ou 30° avec quelques centimètres cubes d'ammoniaque. On filtre sur un verre de montre et on abandonne au repos pendant une demi-journée. Au bout de ce temps, si on est en présence de Rhapontic pur ou d'un mélange contenant une grande quantité de Rhapontic, il se produit en abondance des cristaux de rhaponticine bien visibles au microscope.

b) On agite 1 g. de poudre avec 15 cm³ d'eau à 40° environ, on filtre à chaud et on laisse refroidir. En présence d'une substitution totale ou d'une falsification très grossière il se produit comme précédemment des cristaux de rhaponticine caractéristiques.

2° Si les essais précédents sont négatifs on mélange la poudre avec un lait de chaux et on chauffe au bain-marie pendant une 1/2 heure à une température qui ne doit pas dépasser 50°. La solution rouge est filtrée à chaud et le résidu soumis à deux autres traitements identiques par le lait de chaux. Les filtrats sont réunis et abandonnés au repos pendant 24 heures. On neutralise alors par l'acide sulfurique dilué (la coloration passe du rouge au jaune clair). Cette solution est concentrée au bain-marie jusqu'au 1/3 environ et laissée au repos pendant 24 heures. Au bout de ce temps, si la poudre initiale contient au moins 25 p. 100 de Rhapontic, il apparaît dans la solution concentrée et le dépôt qu'elle surnage, de nombreux cristaux qui ont la forme d'un papillon ou d'un livre ouvert et qu'il est facile d'identifier

à de la rhaponticine en les examinant au microscope. Pour une teneur en Rhapontic inférieure à 25 p. 100, il ne se forme pas de cristaux de rhaponticine mais seulement d'émordine.

3° Dans ce dernier cas, le liquide concentré et le dépôt qu'il a abandonné sont triturés avec du gypse jusqu'à obtention d'une masse ayant la consistance d'une pâte de zinc. Le produit ainsi obtenu est étalé sur une plaque de verre et abandonné jusqu'à dessiccation complète. La masse devenue très dure est alors pulvérisée et épuisée par l'acétone au bain-marie et au réfrigérant à reflux. Ce traitement est renouvelé toutes les 20 minutes pendant 3 fois. On filtre à chaud et les filtrats réunis sont distillés jusqu'à un résidu de 10 g. environ. Ce dernier est versé dans une capsule ou sur un verre de montre et soumis à l'évaporation complète. Le nouveau résidu est repris plusieurs fois par l'alcool à 60° et l'alcool évaporé. Si après dessiccation il ne se produit pas de cristallisation on traite par l'eau chaude et on abandonne au repos pendant une journée en ayant soin d'agiter pendant le refroidissement. Dans ces conditions, si la poudre initiale contient encore 5 p. 100 de Rhapontic il se dépose à côté de l'émordine des cristaux de rhaponticine caractéristiques.

Dans la plupart des cas on observe à la fin de l'expérience précédente :

a) Des aiguilles d'émordine très fines et brunes qui peuvent s'y trouver en grande quantité.

b) Des cristaux de sels de calcium le plus souvent solubles dans l'eau.

c) Des cristaux de rhaponticine.

Ces derniers sont examinés au microscope. Ils se dissolvent dans l'acide sulfurique concentré en prenant une coloration rouge orange.

Quoiqu'on ne puisse par ce procédé séparer complètement la rhaponticine, l'auteur prétend qu'avec quelque pratique il est possible de conclure avec une certitude absolue.

JOACHIMOVITZ dit avoir par sa méthode identifié facilement le Rhapontic non seulement dans la poudre de Rhubarbe falsifiée, mais encore dans les préparations galéniques.

La même année (1) il publie le résultat de ses recherches sur de nombreuses préparations commerciales. L'application de son procédé sur les extraits alcooliques et aqueux lui permet de déceler plusieurs falsifications par le Rhapontic. Par contre il n'obtient pas de résultats probants en soumettant aux mêmes essais le résidu d'évaporation de la teinture vineuse falsifiée par ses soins. Il reconnaît l'insuffisance de sa méthode pour les préparations à réaction acide dont le solvant est constitué par de l'alcool faible. D'après lui en effet, la teinture vineuse par son faible degré alcoolique et par sa réaction acide est un mauvais solvant de la rhaponticine qui, dissoute au cours de l'extraction par l'alcool se dépose par la suite.

La méthode de JOACHIMOVITZ utilisant la solubilité de la rhaponticine dans un lait de chaux constitue en somme un procédé d'extraction de ce glucoside. L'auteur l'a d'ailleurs également utilisée dans ce but. Les nombreux échantillons qu'il a traités contenaient des quantités très variables de rhaponticine. C'est ainsi qu'il a pu extraire de certains jusqu'à 5,5 p. 100 de ce glucoside ; d'autres par contre, en contenaient moins de 1 p. 100.

En 1929, KONNERTH et SCHOETZOW (2) examinèrent un lot de Rhubarbe qui présentait avec le Rhapontic des caractères microscopiques communs. Ils soumirent des échantillons de cette Rhubarbe aux essais prescrits par la Pharmacopée des Etats-Unis et par la Pharmacopée allemande.

(1) M. JOACHIMOVITZ. — Ueber Rhapontik. *Pharm. Monat.*, 1924, **5**, 204-205.

(2) R. A. KONNERTH and R. E. SCHOETZOW. — Comments on the U.S.P.X. Test for Rhapontic Rhubarb. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, **18**, 1235-36.

Le procédé adopté par la Pharmacopée américaine est exactement celui de TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI. La présence de rhaponticine est indiquée par l'apparition au bout de 24 heures de cristaux prismatiques jaunes. Cet essai leur donna des résultats négatifs. Ils estiment que le temps limite de 24 heures est insuffisant pour la cristallisation de la rhaponticine. Par contre, ils préconisent le procédé de la Pharmacopée allemande qui leur a donné des résultats positifs et qui est le suivant :

5 grammes de poudre de Rhubarbe sont traités au bain-marie et au réfrigérant à reflux pendant 1/4 d'heure avec 22 cm³ d'alcool à 68 p. 100 en volume. On filtre et le résidu est soumis à un deuxième traitement identique. Les filtrats sont réunis et évaporés dans un flacon taré jusqu'à 3 ou 4 g.. Le résidu est versé dans un tube à essai, refroidi et agité avec 5 g. d'éther. Après un repos de plusieurs jours il ne doit pas se former de cristaux en forme d'aiguilles dans l'éther ou sur les parois du tube.

Les procédés inscrits aux Pharmacopées Belge, Suisse, Hongroise, Hollandaise et Espagnole, fixant également à 24 heures le temps limite d'apparition des cristaux de rhaponticine sont par conséquent sujets aux mêmes critiques que celui de la Pharmacopée américaine.

D'autres méthodes n'utilisant pas les réactions de la rhaponticine ont été préconisées. Leur étude n'entre pas dans le cadre de ce travail. A part l'une, elles n'ont d'ailleurs aucune valeur. La seule qui présente un intérêt incontestable est la méthode de WIMMER (1) qui ne s'applique qu'à l'étude des poudres. Elle consiste à examiner au microscope la poudre de Rhubarbe falsifiée, préalablement soumise à un traitement par le perhydrol et la potasse. Dans ces conditions les particules de poudre de Rhubarbe ne sont guère modifiées, celles de Rhapontic au contraire apparaissent nettement colorées en violet plus ou moins foncé.

(1) G. WIMMER. — Mikrochemische Unterscheidung von Rhapontik und Rheum. *Pharm. Post.*, 1919, **52**, 221.

La cause de cette réaction qui n'est pas donnée par la rhaponticine pure est encore inconnue.

Ainsi la plupart des méthodes chimiques employées par les auteurs pour déceler le Rhapontic dans la Rhubarbe, ne permettent après de longues manipulations de donner de certitude que dans les cas de substitution totale ou de falsifications très grossières. D'autre part, les essais ont surtout porté sur la drogue entière ou la poudre et n'ont guère été étendus aux autres préparations de Rhubarbe.

La seule méthode qui puisse prétendre à quelque sensibilité et à un emploi plus général est celle de JOACHIMOVITZ. Mais elle est extrêmement longue et compliquée surtout lorsqu'il s'agit de falsifications faibles. Enfin l'auteur lui-même reconnaît qu'il n'est pas possible de l'étendre à toutes les préparations galéniques de Rhubarbe.

TROISIÈME CHAPITRE.

Données antérieures relatives aux méthodes utilisant la fluorescence en lumière de Wood pour déceler le Rhapontic dans la Rhubarbe et ses préparations.

En France, les premiers essais d'identification des drogues végétales par la fluorescence ont été effectués en 1924 par BRETIN et LEULIER (1). C'est au cours de ces essais que la fluorescence violette caractéristique du Rhapontic à la lumière de Wood fut découverte.

Les observations des auteurs sont les suivantes :

« Rhubarbe de Chine, plate et ronde, en morceaux : pas de changement de teinte ».

« Rhubarbe anglaise en morceaux plats : la teinte se fonce en brun marron ».

« Rhapontic en morceaux : fluorescence violet foncé sur le sec, bleu violet sur les sections fraîches ».

« Poudre de Rhubarbe : coloration marron ».

« Poudre de Rhapontic : beau violet ».

En 1928, MAHEU (2) reprit la question de la fluores-

(1) Ph. BRETIN et A. LEULIER. — Essais d'identification des drogues par la fluorescence. *Bull. Sc. Pharm.*, 1924, **31**, 630-631.

(2) J. MAHEU. — Méthodes de différenciation et de détermination de valeur des Rhubarbes, basées sur la fluorescence. *Bull. Sc. Pharm.*, 1928, **35**, 278-288.

cence des Rhubarbes et des Rhapontics et étudia successivement :

1° La fluorescence des rhizomes provenant de différentes espèces de *Rheum*.

2° La fluorescence produite par les principes actifs des Rhubarbes officinales et du Rhapontic.

3° La fluorescence des poudres de Rhubarbe et de Rhapontic soit pures, soit en mélange.

4° La fluorescence des poudres de Rhubarbe et de Rhapontic et de leur mélange sous le microscope, ainsi que le dosage de petites proportions de poudre de Rhapontic dans la poudre de Rhubarbe.

5° La fluorescence des produits médicamenteux : teintures et extraits.

Ses conclusions sont les suivantes :

a) « Tous les véritables types de Rhubarbe de Chine et même anglaise, mais produites par le *Rh. officinale* H. BN. donnent une fluorescence brun velouté (*Rh. officinale* H. BN., *Rh. Emodi* Wall., *Rh. tanguticum* L.). Par contre le Rhapontic fournissant la Rhubarbe de France donne une fluorescence violette un peu rougeâtre. Il en est de même des espèces suivantes : *Rh. Rhaponticum* L., *Rh. undulatum* L., *Rh. compactum* L., *Rh. Ribes* L... ».

« Ces fluorescences sont liées à la nature de l'espèce et non à son mode de culture ».

Ainsi d'après MAHEU le *Rh. Emodi* Wall. donne la fluorescence brun veloutée caractéristique des Rhubarbes vraies et doit être rangé parmi ces dernières.

b) Dans les coupes les zones de fluorescence sont localisées de la façon suivante :

« Les coupes de *Rh. Rhaponticum* L. présentent une fluorescence violette claire dans tous les parenchymes et, de place en place, des zones diffuses de diamètre variable de couleur violette très nette. Les rayons médullaires non éclairés conservent leur couleur brun rouge.

Il en est de même de la région ligneuse qui reste brun jaune non brillante.

Dans les mêmes conditions d'examen, les coupes de *Rh. undulatum* L., *Rh. compactum* L., *Rh. Ribes* L., ont toutes leur parenchyme violet foncé très net, fortement fluorescent. Comme pour le Rhapontic, les rayons médullaires et la région ligneuse ne s'éclairent pas.

Les coupes de rhizome de Rhubarbe vraie montrent des parenchymes blanchâtres peu fluorescents sur lesquels tranchent les rayons médullaires très bruns représentant autour d'eux des cellules fluorescentes brun-rouge ».

c) Par l'examen direct à la lumière de Wood et en présence de deux échantillons témoins de poudre de Rhubarbe pure et de poudre de Rhapontic pur, MAHEU a pu déceler dans la poudre de Rhubarbe une falsification à 10 p. 100.

d) En comparant sous le microscope éclairé par les rayons de Wood la poudre soumise à l'analyse et des mélanges de titres connus, MAHEU a pu déterminer jusqu'à 1 p. 100 de poudre de Rhapontic dans la poudre de Rhubarbe.

e) La rhaponticine de MAHEU isolée par le procédé de TSCHIRCH se présente en cristaux jaunes prismatiques, donnant une fluorescence jaune d'or.

La présence de cette rhaponticine ne permet donc pas d'expliquer la fluorescence violet-rouge caractéristique du Rhapontic.

f) Les teintures préparées par la méthode du Codex et examinées dans de petits cristallisoirs de verre, donnent une fluorescence violet-rouge pour les teintures de Rhapontic et de Rhubarbe autrichienne. La teinture de Rhubarbe vraie au contraire donne une fluorescence brun-rouge velouté identique à celle obtenue avec les échantillons de rhizome de différentes provenances.

Les extraits examinés directement ne sont pas fluorescents. Pour les rendre fluorescents il est nécessaire

de les délayer dans une capsule de porcelaine avec de l'alcool absolu. Dans ces conditions celui de Rhubarbe donne une belle fluorescence brun orange, celui de Rhapontic une fluorescence blanc de lait.

WASICKY (1) en 1929, prétend avoir démontré d'une façon certaine que la fluorescence « bleu-violet » du Rhapontic est due à la rhaponticine.

Dans ce but, il a soumis directement la rhaponticine cristallisée à la lumière de Wood et a observé une fluorescence bleu clair intense, tandis que les solutions de rhaponticine n'ont donné dans les mêmes conditions qu'une fluorescence très faible.

D'autre part, la poudre de Rhubarbe de Chine mélangée à une très petite quantité de rhaponticine donne, examinée à la lumière de Wood, la même fluorescence que la poudre de Rhapontic pur.

Pour déceler la présence du Rhapontic dans les préparations de Rhubarbe, WASICKY utilise une méthode basée sur la capillarité : Il suffit de tremper des bandes de papier filtre dans la préparation de Rhubarbe diluée. Ces bandes une fois desséchées sont soumises aux rayons de Wood et une fluorescence bleu-clair apparaît à l'endroit où il y a de la rhaponticine.

Par cette simple expérience, WASICKY dit avoir montré que la plupart des préparations commerciales de Rhubarbe sont falsifiées par du Rhapontic.

L'année suivante, FODOR et KICHLER (2) observent que la fluorescence bleu-clair caractéristique de la rhaponticine est modifiée par les alcalis. A partir de $\text{pH} = 9$ la fluorescence devient brusquement jaune d'or. Le virage est très net. Par addition d'acide la fluorescence bleu-clair initiale réapparaît.

A la suite de cette découverte ces auteurs pensent que

(1) R. WASICKY. — Die Anwendung der Fluorenz in der Pharmazie. *Pharm. Monat.*, 1929, **10**, 17.

(2) G. FODOR und A. KICHLER. — Beitrag zur Lumineszenzanalyse von Drogen und galenischen Präparaten. *Pharm. Monat.*, 1930, **2**, 29-31.

la fluorescence jaune d'or de la rhaponticine de MAHEU est due à une purification de ce glucoside en milieu alcalin.

FODOR et KICHLER ont utilisé cette variation de fluorescence de la rhaponticine sous l'action des alcalis pour déceler le Rhapontic dans les préparations de Rhubarbe. Il suffit d'ajouter à ces dernières de la lessive de soude et d'observer l'apparition de la fluorescence jaune d'or ; une préparation de Rhubarbe pure donnant dans les mêmes conditions une fluorescence bleu vert.

En appliquant cette méthode à l'extrait et à la « teinture » aqueuse préparés suivant les prescriptions de la Pharmacopée allemande, les auteurs ont décelé dans ces préparations des falsifications à 10 p. 100.

Ces mêmes auteurs ont également utilisé la méthode par capillarité préconisée par WASICKY et précisé les conditions de son emploi :

Des bandes de papier filtre de 20 cm. de longueur sur 3 cm. de largeur plissées au milieu, sont trempées pendant une heure dans une éprouvette de 50 cm³ contenant sur une hauteur de 2 cm. la préparation à étudier. Avant l'examen à la lampe ces bandes sont soigneusement desséchées.

Les résultats obtenus par les auteurs sont consignés dans le tableau suivant :

Nous exposerons au cours de notre travail les critiques que l'application de ces diverses méthodes nous a suggérées, en même temps que les modifications susceptibles d'en faciliter considérablement la technique et d'en augmenter la sensibilité.

Rheum Rhaponticum	Extrait de poudre de Rheum	Rheum Rhaponticum	Teinture aqueuse	Rheum Rhaponticum	Teinture vineuse
	Bleu clair, devenant plus pâle vers le haut, se termine par une zone étroite verdâtre.	Rheum Rhaponticum	Zone bleue avec bord lumineux bleuâtre, ensuite zone verte large passant au gris avec taches plus foncées.	Rheum Rhaponticum	Zone lumineuse bleue. Zone bleuâtre.
50 % de Rhapontic jusqu'à 10 % de Rhapontic.	Bleu violet, devenant vers le haut plus pâle, ensuite rougeâtre, le bord verdâtre précède une zone brune. Avec une grande dilution la zone violette pâlit et devient rougeâtre, zone brune plus large.	5 % Rhapontic	Zone rouge violet lumineuse. Zone étroite brune. Zone vert gris avec taches foncées.	5 % Rhapontic	Rouge violet lumineux. Zone étroite, zone vert jaune, zone bleuâtre.
5 % Rhapontic	Zone rouge violet très nette, la partie immergée et le pli du papier sont encore plus clairs. Bords bleuâtres.	2 % Rhapontic	Zone brune avec reflets rouge violets, zone gris vert avec taches plus foncées.	2 % Rhapontic	Zone jaunâtre avec reflets rouge violets, zone bleuâtre.
3 % Rhapontic	Brun ; reflets, rouges violets dans la partie immergée et sur le pli du papier. Bord plus blanc.				
0,5 % Rhapontic	Brun avec une raie rouge, bord à peu près blanc.				
Rhubarbe de Chine	Brun, zone supérieure un peu plus claire, bord plus brun.	Rhubarbe de Chine	Zone brune, zone verte mate avec taches foncées.	Rhubarbe de Chine	Zone jaunâtre et zone bleuâtre.

DEUXIÈME PARTIE.

PREMIER CHAPITRE.

Extraction de la Rhaponticine et des autres constituants cristallisables du Rhapontic.

La rhaponticine isolée à l'état cristallisé, présente la propriété d'être insoluble dans l'eau et dans tous les solvants organiques habituels. Elle se dissout au contraire dans plusieurs de ces solvants lorsqu'on épuise la racine de Rhapontic en poudre. La solubilité dans ce cas est provoquée par des actions de présence, phénomène bien connu commun à d'autres corps.

Les méthodes d'extraction que nous avons rapidement exposées dans la première partie de ce travail utilisent, soit l'alcool à des titres divers, soit l'éther, soit l'acétone, soit l'action successive de ces solvants. La rhaponticine est ensuite extraite, soit par cristallisation après évaporation, soit par précipitation par de nouveaux solvants, généralement benzène ou éther de pétrole, soit en combinant ces deux opérations. L'application de ces méthodes exige donc un grand nombre de manipulations, des solvants divers et un matériel approprié.

Nous nous sommes efforcé de mettre au point un procédé d'extraction n'utilisant qu'un seul solvant, l'acétone, anhydre ou aqueuse suivant l'opération effectuée, et permettant d'isoler la rhapsodicine toujours par le même moyen : la cristallisation après évaporation et refroidissement.

Le choix de l'acétone nous a été inspiré par l'application de la méthode de GILSON. Ce solvant présente en effet les avantages suivants :

1. Par simple contact à froid avec la poudre de Rhapsodic, il prive rapidement cette dernière de la plus grande partie de sa rhapsodicine.

2. La rhapsodicine cristallisée est insoluble dans l'acétone anhydre alors que les autres constituants du Rhapsodic y sont solubles, ce qui permet une séparation aisée.

3. La rhapsodicine est au contraire soluble dans l'acétone contenant environ 10 p. 100 d'eau en volume et la solubilité est encore totale si la quantité d'eau s'élève à 40 p. 100. Au-dessus de ce taux la rhapsodicine précipite. Ce mélange de 40 parties d'eau et de 60 parties d'acétone utilisé par GILSON, permet une purification aisée du glucoside sans le soumettre à une température élevée. Il suffit en effet de distiller une petite quantité de l'acétone pour que le pouvoir dissolvant du liquide pour la rhapsodicine diminue considérablement et que celle-ci se dépose cristallisée par refroidissement.

4. Enfin, l'emploi de l'acétone anhydre et de l'acétone aqueuse à des titres différents nous a permis d'isoler par cristallisations fractionnées une série de corps qui accompagnent la rhapsodicine dans l'extraît acétonique de Rhapsodic, mais que nous n'avons pas identifiés.

La matière première nous a été fournie par deux échantillons de Rhapsodic de France de teneurs différentes en rhapsodicine, mais l'un et l'autre cependant beaucoup moins riches que ceux qu'ont employés les auteurs précités.

Nous nous sommes arrêté au procédé suivant :

Les racines de Rhapontic bien desséchées sont pulvérisées et passées au tamis n° 15. 8 kg. de poudre répartis en 3 flacons de 10 litres, sont additionnés de 16 litres d'acétone au total. On agite de temps en temps pour éviter l'agglomération de la masse. 24 heures après on procède à un premier siphonage puis à un nouvel épuisement avec 12 litres d'acétone ; on agite fréquemment puis au bout de 24 heures, nouveau siphonage et nouvel épuisement avec 12 litres d'acétone. Enfin on procède à un dernier épuisement de 24 heures avec seulement 6 litres d'acétone. On siphonne le liquide surnageant et on exprime la poudre. Soit au total 4 épuisements de 24 heures avec 46 litres d'acétone.

La quantité totale d'acétone recueillie par siphonage et expression est de 32 litres, soit une perte de solvant relativement considérable de 14 litres pour 8 kg. de poudre.

L'acétone recueillie au cours des deux premiers siphonages a une coloration noir rougeâtre très foncée. Le troisième épuisement donne un liquide extractif beaucoup plus clair. Celui du quatrième et celui obtenu de l'expression sont encore moins colorés en marron jaune.

Nous pensons que tel est le moyen le plus rapide et le plus pratique pour extraire de la poudre de Rhapontic le maximum de rhapsanticine. Nous avons en effet augmenté la durée et le nombre des macérations sans obtenir une différence de rendement appréciable. C'est ainsi qu'une première macération de 8 jours, suivie de 4 autres de 48 heures, n'épuisent pas mieux en rhapsanticine la poudre de Rhapontic. Le quatrième et le cinquième épuisements fournissent des liquides extractifs de même coloration très claire, donnant par évaporation des quantités négligeables d'extract.

Nous avons tenté de suivre méthodiquement l'action dissolvante de l'acétone vis-à-vis de la rhapsanticine au cours de ces épuisements successifs. Pour cela, nous

avons prélevé des échantillons de liquide à chaque siphonage et nous avons effectué sur ces échantillons les deux réactions de caractérisation de la rhaponticine, réactions que nous exposerons par la suite, et utilisant, l'une un réactif chimique, l'autre la fluorescence en lumière de Wood.

La réaction chimique moins sensible, a nettement révélé un appauvrissement progressif et rapide en rhaponticine des liquides extractifs jusqu'au quatrième épuisement. L'acétone provenant de ce dernier épuisement donna une réaction douteuse.

La réaction de fluorescence ne nous a pas permis à cause de son extrême sensibilité, de suivre nettement la dissolution de la rhaponticine sauf toutefois entre le premier et le dernier épuisement. Tous les liquides extractifs même celui provenant d'un cinquième épuisement donnèrent en effet cette réaction avec beaucoup d'intensité.

Enfin, la réaction chimique et évidemment la réaction de fluorescence effectuées sur la poudre épuisée y révélèrent encore nettement la présence de rhaponticine. Elles nous permirent d'évaluer très approximativement, à un quart de la rhaponticine totale, la quantité non extraite.

Après ces observations nous croyons pouvoir conclure :

1. Que par le procédé que nous venons de décrire l'extraction de la rhaponticine n'est pas complète.
2. Que la plus grande partie de la rhaponticine se dissout rapidement au cours des trois ou quatre premiers épuisements et que les épuisements ultérieurs ne présentent aucun intérêt pratique. Tout se passe comme si une partie seulement de la rhaponticine, (les trois quarts environ) était soluble dans l'acétone.

Il est possible que l'emploi d'un ou de plusieurs autres dissolvants après l'action de l'acétone conduise à un épuisement total. Ceci expliquerait dans une certaine mesure les différences trouvées par les auteurs quant à la richesse en rhaponticine suivant l'emploi d'un seul ou de plusieurs dissolvants.

Quoiqu'il en soit, notre but n'a pas été d'extraire la totalité de la rhaponticine de la poudre de Rhapontic, mais plutôt de mettre au point un procédé rapide et pratique permettant d'en dissoudre la majeure partie.

Distillation de l'acétone. — Les solutions extractives sont distillées au bain-marie jusqu'à consistance légèrement sirupeuse. Il est préférable, pour éviter une perte de temps, de procéder à la distillation après chaque siphonage. Dans tous les cas, il est prudent de ne pas recharger plus d'une fois le ballon servant à la distillation afin de ne pas soumettre la rhaponticine à une action prolongée de la chaleur.

L'évaporation de l'acétone ainsi conduite laisse un résidu sirupeux noirâtre qui abandonné au refroidissement durcit et ne tarde pas à être envahi dans toute sa masse par de nombreux cristaux de rhaponticine. L'addition d'une petite quantité d'acétone exempte d'eau provoque à la surface de la masse une cristallisation abondante jaune sale.

Extraction de la Rhaponticine. — Le moyen le plus pratique pour extraire la rhaponticine de ce résidu est le suivant :

On ajoute sur le résidu de l'acétone exempte d'eau par portions de 50 cm³ en agitant légèrement jusqu'à ce que la cristallisation ainsi provoquée ait paru s'arrêter. On décante le précipité sur un filtre en s'aidant de la trompe à vide. On verse sur le résidu une nouvelle quantité d'acétone ; il se produit une nouvelle cristallisation ; on décante et on recommence ces opérations jusqu'à ce que l'addition d'acétone sur le résidu ne produise plus de cristallisation. Le résidu ainsi épuisé a été mis de côté dans un ballon sous toluène et n'a plus été étudié ; une prise d'essai examinée au microscope n'a montré que de très rares cristaux de rhaponticine.

Le produit recueilli sur le filtre est lavé à l'acétone anhydre jusqu'à ce que l'acétone passe incolore. Le contenu du filtre a alors une teinte jaune grisâtre pâle. Il

est constitué par la presque totalité de la rhaponticine extraite. Le filtrat auquel sont réunies les solutions acétoniques de lavage du précipité ne contient au contraire qu'une très faible proportion de rhaponticine, mais la plus grande partie des autres constituants cristallisables du Rhapontic. Il a une coloration jaune marron très foncée.

Remarques. — Au cours de ces dernières manipulations il est rigoureusement nécessaire de n'utiliser que de l'acétone exempte d'eau. En effet à ce stade, la rhaponticine bien que très impure est cependant cristallisée, et de ce fait son insolubilité dans l'acétone anhydre est déjà presque complète. D'autre part la solubilité dans l'acétone aqueuse est aussi modifiée. Tandis qu'il est nécessaire pour dissoudre la rhaponticine pure d'utiliser de l'acétone contenant au moins 10 p. 100 d'eau en volume, quelques centièmes suffisent pour provoquer une solubilité appréciable de la rhaponticine impure. En d'autres termes, la solubilité de la rhaponticine dans de l'acétone contenant de 0 à 10 p. 100 d'eau croît en raison inverse de sa pureté.

C'est ainsi que le solvant récupéré au cours des distillations précédentes, ne peut pas être utilisé à la précipitation de la rhaponticine dans le résidu, ni à son lavage sur le filtre. Il en dissoudrait une grande partie qui serait entraînée dans le filtrat avec les autres constituants du Rhapontic solubles dans ce solvant. Pour utiliser dans ce but l'acétone récupérée il est donc nécessaire de la rectifier.

Bien qu'ayant employé de l'acétone exempte d'eau, nous avons cependant retrouvé une petite quantité de rhaponticine dans le filtrat.

On peut expliquer cela de la façon suivante :

1. La rhaponticine cristallisée mais très impure n'est pas rigoureusement insoluble dans l'acétone anhydre même à froid.

2. Il existe obligatoirement dans l'extrait acétonique de Rhapontic une petite quantité d'eau qui provoque une solubilisation partielle.

Ceci dit, nous avons à étudier d'une part *le précipité* constitué par la rhaponticine impure, d'autre part *le filtrat*.

Le précipité. — Nous avons purifié la rhaponticine par cristallisations successives dans l'acétone aqueuse puis finalement par action du noir animal dans ce même solvant.

Nous avons remarqué au cours de diverses expériences que pour obtenir un produit parfaitement blanc il était nécessaire d'éviter de soumettre la rhaponticine au cours de l'extraction, quel que soit son degré de pureté, à l'action prolongée de la chaleur à une température supérieure à 70°. Tandis que la rhaponticine pure et bien desséchée supporte, même en présence de l'air une température de 110° pendant une heure sans modification apparente de coloration, elle prend une teinte brun clair définitive lorsqu'on combine l'action de la chaleur dès 70°, avec celle de l'air et de l'humidité.

Le moyen que nous préconisons permet d'obtenir parfaitement blanche la plus grande partie du produit, sans qu'il soit nécessaire pour cela de se placer à l'abri de l'air et de l'humidité. Il suffit d'opérer à une température voisine du point d'ébullition de l'acétone et de réduire au minimum le temps de chauffe.

Si le mélange de 60 parties d'acétone pour 40 parties d'eau distillée utilisé par GILSON, est celui qui convient le mieux à la cristallisation de la rhaponticine, il ne correspond pas au maximum de solubilité de ce produit. Le solvant qui remplit cette condition est un mélange acétone-eau moins riche en eau. Nous avons vu que la teneur en eau correspondant à ce maximum de solubilité est variable et dépend de la pureté du produit ; elle est d'autant plus faible que le produit est moins pur. Le maximum de solubilité pour la rhaponticine pure est

atteint avec une teneur en eau voisine de 20 p. 100. Mais quel que soit le degré de pureté de ce glucoside, une fois qu'il est dissous, il est possible d'ajouter la quantité d'eau nécessaire pour se placer dans les conditions du mélange de GILSON, et la solubilité est intégralement conservée.

C'est sur ces diverses considérations que nous avons basé la purification de la rhaponticine : Effectuer à chaque étape de la purification la dissolution du produit dans un mélange acétone-eau correspondant à son maximum de solubilité, puis ajouter la quantité d'eau nécessaire pour se placer à la limite de solubilité ; il suffit alors d'évaporer une petite quantité d'acétone pour obtenir la cristallisation de la plus grande partie du produit dissous.

Nous avons opéré de la façon suivante :

Le précipité recueilli sur le filtre est placé dans un ballon surmonté d'un réfrigérant à reflux et additionné de 600 cm³ d'acétone. On porte au bain-marie. Dès que l'ébullition est commencée on verse petit à petit de l'eau distillée par l'ouverture du réfrigérant sans interrompre l'ébullition. L'addition de 40 cm³ a suffi pour provoquer une dissolution immédiate et presque totale. La coloration devient très foncée presque noire. On prolonge l'ébullition pendant 2 minutes pour que la dissolution de la rhaponticine soit complète et on filtre rapidement à chaud. On complète à un litre avec de l'eau distillée. La solution ainsi obtenue est portée au bain-marie dans un ballon relié à un réfrigérant descendant. La distillation de 100 cm³ d'acétone provoque l'apparition d'un louche. Le ballon est aussitôt retiré du bain-marie et abandonné au refroidissement à la température du laboratoire. On obtient ainsi la cristallisation de la plus grande partie de la rhaponticine colorée en brun jaune qu'on recueille par essorage.

Les eaux-mères sont soumises à une deuxième, puis à une troisième distillation dans lesquelles on recueille à chacune 200 cm³ d'acétone. Les produits de cristallisa-

tion obtenus sont réunis au précédent. Une quatrième distillation très poussée n'a donné lieu à aucune cristallisation. Le résidu du ballon constitué par un liquide noirâtre légèrement sirupeux n'est pas conservé. Un échantillon de la rhaponticine recueillie au cours de ces trois cristallisations successives est mis de côté. Nous l'appelons : *Rhaponticine I*.

La totalité de la rhaponticine ainsi obtenue est soumise à un nouveau traitement dans les mêmes conditions. Un échantillon est mis de côté. Nous l'appelons : *Rhaponticine II*. — C'est un produit encore coloré, bien que moins que le précédent, et dans lequel l'examen microscopique révèle de nombreuses impuretés.

Un troisième traitement identique ne nous a pas paru faire avancer beaucoup la purification.

Nous avons alors soumis la rhaponticine à trois traitements successifs au noir animal. Ce dernier a été ajouté après la dissolution du produit au bain-marie. On a ensuite filtré rapidement puis ajouté la quantité d'eau distillée nécessaire pour se placer dans les conditions du mélange de 60 parties d'acétone pour 40 parties d'eau.

Le noir animal provoque une décoloration rapide et après le troisième traitement on obtient par une première cristallisation un produit parfaitement blanc. Le maximum de solubilité de ce dernier correspond à une teneur en eau de 20 p. 100 de l'acétone aqueuse. Le reste de la rhaponticine est recueilli par une nouvelle concentration mais le produit obtenu est légèrement coloré en jaune très pâle.

Après chaque traitement un échantillon de rhaponticine a été prélevé et désigné de la façon suivante : *Rhaponticine III, IV, V*.

Même après le deuxième traitement au noir animal, le filtrat légèrement concentré est nettement coloré en jaune orangé clair. Or, quand la cristallisation se produit, les cristaux apparaissent presque parfaitement blancs et le liquide mère incolore. Il semble donc que la

matière colorante ait été adsorbée par les cristaux sans pour cela être visible sur eux. La dissolution de la rhapsonticine V elle-même donne encore un liquide très légèrement coloré. Cette coloration ne disparaît pas par un quatrième traitement au noir animal.

Nous avons également soumis à une nouvelle action du noir animal et à une recristallisation la rhapsonticine légèrement colorée en jaune récupérée des eaux-mères de cristallisation du produit V. La coloration a persisté avec la même intensité. Nous avons prélevé un échantillon de la rhapsonticine ainsi obtenue et nous l'avons appelé : *Rhapsonticine VI*.

Il nous a paru intéressant de suivre les diverses étapes de la purification par la détermination des points de fusion des échantillons prélevés. Nous avons utilisé le bloc de MAQUENNE.

Les résultats obtenus sont les suivants :

	P. F.
Rhapsonticine I	230°-231°
Rhapsonticine II	234°
Rhapsonticine III	236°
Rhapsonticine IV, V, VI	237°-238°

Nous pouvons donc conclure :

1. Que deux cristallisations dans l'acétone aqueuse et deux traitements au noir animal, dans les conditions que nous avons précisées, suffisent pour obtenir un produit à point de fusion constant.

2. Qu'il est cependant nécessaire pour obtenir un produit parfaitement blanc, d'effectuer un troisième traitement au noir animal, ce dernier ne faisant disparaître que la coloration sans modifier le point de fusion.

3. Que la coloration légèrement jaune de la rhapsonticine VI, coloration que nous attribuons à l'action trop prolongée de la chaleur en milieu aqueux, ne modifie pas

le point de fusion et ne paraît par conséquent pas constituer une impureté grave.

Tel est le degré de pureté que nous avons atteint et que nous ne croyons pas possible de dépasser par la méthode d'extraction que nous avons employée et dans laquelle nous avons surtout recherché la simplicité.

Le filtrat. — Nous avons tout d'abord entrepris l'étude du filtrat dans le but d'en extraire uniquement la rhaponticine que nous pensions y rencontrer en quantité beaucoup plus grande que celle que nous en avons en réalité isolée. Or, nous nous sommes trouvé en présence d'un certain nombre de beaux produits, très bien cristallisés en quantité appréciable, tandis que nous n'avons isolé qu'une faible proportion de rhaponticine. Pour leur extraction nous avons encore utilisé le même solvant, l'acétone, et l'addition de quantités variables d'eau à ce solvant nous a permis d'effectuer plusieurs fractionnements.

Nous n'avons identifié aucun de ces corps, leur étude n'entrant pas dans le cadre de ce travail. Nous ne sommes donc pas sûrs de leur individualité chimique. Cependant il est probable qu'au cours des fractionnements nous avons séparé plusieurs fois le même corps. Le nombre des produits que nous avons ainsi obtenus est en effet bien supérieur à celui que les auteurs ont rencontré dans divers *Rheum* à rhaponticine en particulier le *Rheum Rhaponticum* L. et le *Rheum Emodi* Wall.

Nous comptons reprendre dans un prochain travail l'étude de cette question, en même temps que celle de la constitution de la rhaponticine d'après son hydrolyse biochimique.

Nous avons donc désigné par des lettres les divers produits que nous avons isolés de la façon suivante:

Par concentrations successives et cristallisations après refroidissement, on a obtenu divers corps cristallisés jaune orange mat, macroscopiquement identiques qui ont été réunis sous la dénomination de *Produit A*.

Ce produit A a été traité par de l'acétone à laquelle des quantités décroissantes d'eau distillée ont été ajoutées.

Premier traitement. — Le produit A a été additionné de :

Acétone	1 litre
Eau distillée	180 cm ³

et porté au bain-marie au réfrigérant à reflux. Malgré un séjour prolongé au bain-marie nous n'avons pas remarqué une dissolution appréciable. Néanmoins après repos, le liquide surnageant coloré en orangé a été décanté sur un filtre puis agité avec du noir animal. Après filtration et concentration il s'est déposé par refroidissement un corps cristallisé jaune doré pâle que nous avons appelé A¹.

2° Traitement. — Un nouveau traitement identique mais avec un solvant moins riche en eau :

Acétone	1 litre
Eau distillée	100 cm ³

a permis d'isoler un produit cristallisé, A², jaune légèrement orange.

3° Traitement. — Un troisième traitement dans les mêmes conditions mais en opérant avec :

Acétone	1 litre
Eau distillée	60 cm ³

a permis l'extraction d'un produit A³ bien cristallisé analogue au précédent mais d'un jaune plus clair.

4° Traitement. — Enfin un quatrième traitement identique mais en utilisant de l'acétone exempte d'eau a provoqué une dissolution complète. Après action du noir animal et filtration, il s'est déposé un corps cristallisé A⁴ possédant une belle coloration orange.

Au cours de ces divers traitements nous avons remarqué que tous les filtrats encore chauds après action du

noir animal, précipitent abondamment en jaune ou jaune orangé par addition d'une très petite quantité d'eau, ce qui indique la solubilité facile de ces produits dans l'acétone exempte d'eau et leur insolubilité dans l'eau. Cependant nous n'avons pas pu dissoudre directement la totalité du produit A dans l'acétone anhydre même en employant une grande quantité de ce solvant et en maintenant l'ébullition pendant 1 heure au bain-marie. La solubilité totale n'a pu être atteinte qu'en opérant par fractionnements avec de l'acétone de moins en moins riche en eau, ainsi que nous l'avons indiqué. Il est donc logique d'admettre que les produits A¹, A², A³, A⁴, ne sont pas tous identiques.

TRAITEMENT DES EAUX-MÈRES.

1. La concentration des eaux-mères de cristallisation de A¹ et A² donne après refroidissement un produit cristallisé A¹⁷ marron clair. Celui-ci est facilement dissous à chaud dans l'acétone récupérée et après traitement au noir animal on obtient la cristallisation en faible proportion d'un corps peu coloré légèrement verdâtre A¹⁸. Les eaux mères de cristallisation de ce dernier sont ensuite concentrées jusqu'à ce que par refroidissement il ne se produise plus de cristaux. On isole ainsi un produit cristallisé *r*, de coloration nettement jaunâtre, dont la forme cristalline et les réactions colorées permettent de l'identifier à la rhaponticine.

Ce produit *r* est traité au bain-marie et au réfrigérant à reflux par de l'acétone contenant 40 p. 100 d'eau. Une partie se dissout très rapidement, l'autre reste insoluble même en prolongeant l'ébullition.

Partie soluble. — La solution est traitée à chaud au noir animal et filtrée. Elle est très peu colorée. Par refroidissement elle laisse déposer, mais en très petite quantité, des cristaux d'un produit légèrement coloré en vert et semblable au corps A¹⁸. Ce produit est essoré et

l'eau mère concentrée à nouveau. On obtient par refroidissement une nouvelle quantité de cristaux d'un produit qui paraît identique au précédent. Un nouvel essorage et une nouvelle concentration donne une dernière cristallisation analogue.

Ces corps cristallisés de coloration légèrement verte sont réunis et l'ensemble désigné par r' . Ils possèdent tous les caractères cristallographiques et les réactions colorées et de fluorescence de la rhaponticine. Par traitement au noir animal et recristallisation leur coloration n'est pas modifiée. Leur point de fusion instantanée est 237° - 238° .

Partie insoluble. — La partie insoluble recueillie sur un filtre est dissoute très rapidement à chaud dans un mélange contenant 20 cm³ d'eau pour 250 cm³ d'acétone. La solution est agitée avec du noir animal et filtrée. Par refroidissement il se dépose un produit cristallisé légèrement rosé r^1 qui est essoré. Les eaux-mères concentrées à deux reprises laissent déposer de nouvelles quantités du même corps. L'examen microscopique de ce produit montre de nombreux cristaux de rhaponticine mais encore très impure. Cependant, ce produit présente maintenant la propriété d'être facilement soluble à chaud dans l'acétone contenant 40 p. 100 d'eau en volume, alors qu'avant ce dernier traitement il ne l'était pas. Le corps r^1 est donc dissous au bain-marie dans le mélange précité et la solution agitée avec du noir animal. Le filtrat concentré laisse déposer de très beaux cristaux de rhaponticine mais colorés en rose, paraissant très purs au microscope et que nous avons appelés *Rhaponticine R'*. Le point de fusion de cette dernière desséchée pendant 1 heure à 110° est également de 237° - 238° .

II. Les eaux-mères de cristallisation des produits A^3 et A^4 uniquement aqueuses, ont été concentrées dans une capsule. Lorsque le liquide est presque complètement réduit il se produit un dépôt et il se dégage une odeur nette de vanilline. Ce dépôt brun marron dans lequel

apparaissent au microscope des cristaux de diverses formes est certainement très impur et probablement altéré. Il est cependant recueilli et desséché. Nous l'avons désigné par la lettre V. Les eaux-mères de cristallisation du produit A¹ ont abandonné dans les mêmes conditions le même dépôt V. Nous avons pu observer par la suite que l'altération de la rhapsodicine sous l'influence de la chaleur, à l'air et à l'humidité produit cette même odeur de vanilline.

III. Enfin nous avons tenté de fractionner les corps A¹, A², A³, A⁴. Pour cela, nous les avons soumis à des dissolutions à chaud dans l'acétone exempte d'eau suivies d'une action au noir animal, puis à des cristallisations successives après concentration et refroidissement.

Nous avons ainsi obtenu une série de corps cristallisés que nous avons désignés par des lettres correspondant à celles que nous avons attribuées aux produits initiaux.

Soit :

$$\begin{array}{cc} \Lambda^1 \left\{ \begin{array}{l} \Lambda_2^1 \\ \Lambda_3^1 \end{array} \right. & \Lambda^3 \left\{ \begin{array}{l} \Lambda_2^3 \\ \Lambda_3^3 \end{array} \right. \\ \\ \Lambda^2 \left\{ \begin{array}{l} \Lambda_2^2 \\ \Lambda_3^2 \end{array} \right. & \Lambda^4 \left\{ \begin{array}{l} \Lambda_2^4 \\ \Lambda_3^4 \\ \Lambda_4^4 \end{array} \right. \end{array}$$

La coloration de ces divers corps varie du jaune à l'orange.

Enfin les eaux-mères de cristallisation de ces produits presque uniquement aqueuses, ont par concentration très poussée donné lieu au dépôt V à odeur de vanille que nous avons déjà rencontré au cours des évaporations précédentes.

Il résulte de ces diverses opérations :

I. Que toute la rhapsodicine dissoute dans le filtrat peut être récupérée des eaux-mères de cristallisation des produits A¹ et A². En effet tous les corps que nous avons

désignés par les lettres A^{1''}, r, r', rⁱ, R', présentent tous les caractères cristallographiques, le point de fusion, les réactions de coloration et de fluorescence de la rhaponticine. Tous les autres produits isolés du filtrat ne présentent aucun de ces caractères.

II. Nous ignorons à quelle cause doivent être attribuées les diverses colorations, verte, jaune et rose des échantillons de rhaponticine que nous avons extraits du filtrat. Il n'est pas possible de faire disparaître ces colorations par des cristallisations successives, même après l'action du noir animal. En revanche en appliquant à ces produits le procédé de purification chimique exposé dans le paragraphe suivant, nous avons obtenu facilement une rhaponticine parfaitement blanche et cristallisée.

PURIFICATION DE LA RHAPONTICINE.

Nous avons vu que les principaux procédés de purification employés par les auteurs étaient quant aux moyens physiques, la cristallisation dans l'acide acétique glacial ; quant aux moyens chimiques, la formation du dérivé acétylé ou benzoylé et la régénération du produit par saponification.

Nous avons pensé qu'il serait plus facile d'arriver au même résultat en utilisant les propriétés suivantes de la rhaponticine :

1° Sa nature phénolique lui conférant la solubilité dans les alcalis.

2° Son insolubilité dans l'eau et le carbonate de soude permettant de l'obtenir directement par simple passage d'un courant de gaz carbonique dans sa solution alcaline.

Nous avons pu constater que par ce moyen le rendement en rhaponticine pure est à peu près théorique.

Nous nous sommes arrêtés au mode opératoire suivant :

10 g. de rhaponticine (P. F. 237°-238°) résultant de l'extraction à l'acétone, sont pulvérisés et additionnés de 200 cm³ d'eau distillée. A l'aide d'une burette on verse goutte à goutte dans cette suspension et en ayant soin d'agiter après chaque addition de 3 gouttes, de la lessive de soude à 40° B. diluée au 1/4. La dissolution a été complète lorsque 13 cm³,5 de soude ont été ajoutés, le liquide présentant seulement un louche que l'addition d'une plus grande quantité de soude n'a pas fait disparaître. Cette solution est filtrée à la trompe et on obtient un liquide parfaitement limpide mais coloré.

On fait ensuite passer dans cette solution un courant de gaz carbonique. Il a fallu 6 minutes pour atteindre la saturation. Au bout de ce temps la précipitation s'est amorcée et est devenue rapidement très abondante. Le courant de gaz carbonique a été maintenu pendant un quart d'heure. Le produit précipité, quelle que soit la coloration de la rhaponticine initiale, est parfaitement blanc et cristallisé. On essore rapidement à la trompe car la rhaponticine à cet état de grande division, humide et en présence de l'air, a tendance à se colorer légèrement en brun très clair. Le produit est lavé rapidement à l'eau distillée froide jusqu'à ce que l'eau de lavage ne soit plus alcaline. La rhaponticine recueillie est placée sur une plaque poreuse dans un excicateur à acide sulfurique et à l'abri de la lumière.

On a fait passer le courant de gaz carbonique dans le filtrat. Au bout de 5 minutes il s'est amorcé une nouvelle précipitation mais très légère. L'action du gaz carbonique a été maintenue pendant 1/4 d'heure ; le précipité recueilli comme précédemment est de l'ordre de quelques centigrammes.

Les eaux-mères de précipitation ont encore été soumises pendant 1/2 heure à l'action du gaz carbonique sans qu'il y ait une nouvelle précipitation. Cependant au bout de 24 heures un léger louche est apparu dans le liquide, mais après filtration ce dernier est resté parfaitement limpide même après plusieurs jours. Il possède

la coloration brun marron clair de la solution initiale. Cette coloration s'accroît peu à peu même en flacon bouché et devient brune au bout de 48 heures.

On a vérifié que la solution de carbonate de soude ne contient plus, ou peut-être seulement des traces de rhapsodicine. Elle ne donne pas les réactions colorées de la rhapsodicine et est sans action sur la lumière polarisée.

La rhapsodicine précipitée comme on vient de l'indiquer a été recristallisée dans l'acétone aqueuse. Pour cela on a opéré par la méthode habituelle, c'est-à-dire que la rhapsodicine a été additionnée d'acétone, et dès que l'ébullition a commencé on a ajouté de l'eau distillée petit à petit. Il a suffi de 18 p. 100 d'eau en volume pour provoquer une dissolution totale et immédiate. Après filtration on a ajouté la quantité d'eau nécessaire pour porter la teneur à 40 p. 100 et la rhapsodicine a été recueillie par cristallisation après concentration et refroidissement.

Les deux premières concentrations ont permis de recueillir un produit parfaitement blanc et cristallisé. Le reste de la rhapsodicine dissoute, isolée après une troisième concentration est très légèrement coloré en jaune.

C'est un échantillon de rhapsodicine parfaitement blanche recristallisée dans les mêmes conditions, puis desséchée pendant une heure à l'étuve à 110° qui a été soumise à l'analyse.

Les résultats ont été les suivants :

Substance	CO ₂	H ₂ O	Calculé p. C ²¹ H ²⁴ O ⁹	Trouvé
4,210 mg	9,355 mg	2,380 mg	C % = 60,00 H % = 5,71	60,6 6,03

Rendement. — Nous avons isolé par le procédé d'extraction que nous venons d'indiquer 0 g.50 p. 100 de rhapsodicine d'un premier échantillon de Rhapsodic de France et 0,30 p. 100 d'un deuxième échantillon. Ces chiffres expriment la quantité de rhapsodicine purifiée chimiquement et desséchée pendant 2 heures dans le vide à la température d'ébullition du chloroforme.

L'extraction n'ayant pas été complète ils ne représentent pas la teneur des Rhapontics en rhaponticine. Il faudrait pour cela les majorer d'environ 1/4 figurant approximativement la quantité de glucoside ayant échappé à l'action dissolvante de l'acétone, et tenir compte des pertes inévitables au cours des manipulations.

Cependant même dans ces conditions, nous trouvons que le pourcentage en rhaponticine des Rhapontics que nous avons utilisés, est nettement inférieur à la plupart de ceux qu'ont publié les auteurs qui ont expérimenté sur divers *Rheum* à rhaponticine. Ils n'ont, il est vrai, jamais précisé la pureté du produit qui leur a servi à établir ce pourcentage.

Quoiqu'il en soit, il n'est pas douteux que la teneur en rhaponticine des *Rheum* qui en contiennent, varie non seulement avec chaque espèce, mais encore avec chaque plante dans la même espèce.

DEUXIÈME CHAPITRE.

Etude des principales propriétés de la rhaponticine.

Cette étude a pour but :

1° De vérifier l'identité et la pureté du produit isolé et pour cela de déterminer ses constantes.

2° De rechercher parmi les propriétés spécifiques de la rhaponticine celles qui permettent de la déceler facilement dans les préparations de Rhubarbe falsifiées par le Rhapontic.

3° De réaliser par l'émulsine l'hydrolyse de la rhaponticine.

A) Constantes physiques.

En évitant autant que possible l'action combinée de l'humidité et de la chaleur en présence d'air on obtient facilement la rhaponticine en cristaux incolores.

Ces cristaux sont très différents d'aspect suivant la nature du solvant employé, et suivant qu'ils sont obtenus par cristallisation après évaporation ou par précipitation. Les aspects les plus souvent rencontrés sont de petits prismes, des aiguilles très fines et allongées, de petites tablettes prismatiques. Ces différentes formes de cristaux appartiennent au système triclinique. L'étude cristallographique de la rhaponticine a été faite par STRÖBER dans le travail publié par GILSON.

Toutes les déterminations suivantes ont été effectuées sur le produit purifié comme il a été dit, et desséché soit pendant une heure à l'étuve à 110°, soit pendant 2 heures dans le vide à la température d'ébullition du chloroforme. Nous avons vérifié que le produit desséché par ce dernier procédé ne perd pas de son poids après un séjour de 1 heure à l'étuve à 115°.

Point de fusion. — Au bloc de MAQUENNE la rhapsodicine pure fond à 240°-240°5. Elle brunit légèrement à partir de 215°-220°.

Ce point de fusion est nettement supérieur à ceux donnés par les auteurs et qui sont compris entre 230° et 236°.

D'autre part, contrairement à ce qu'ont observé la plupart des auteurs, le produit ne fond pas en se décomposant ; le point de fusion nous a paru au contraire très net et très facile à déterminer avec une approximation de moins de 1°.

Le point de fusion est exactement le même si la rhapsodicine au lieu d'être incolore, est légèrement colorée en jaune brun par suite d'une trop longue exposition à la chaleur en présence de l'acétone aqueuse.

Pouvoir rotatoire spécifique. — Il a été déterminé au tube de 2 dcm. dans différents solvants. Nous nous sommes servi comme source lumineuse, pour faire la lecture polarimétrique, de la lampe à sodium permettant un éclairage bien supérieur à celui du chlorure de sodium fondu.

1° Dans l'acétone contenant 10 parties d'eau en volume

$$[\alpha]_D = -60^\circ \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{Solution à 1 g. p. 100 cm}^3. \\ \text{Déviation} = -1^\circ 12'. \end{array} \right.$$

1° Dans l'acétone contenant 40 parties d'eau en volume (mélange de GILSON).

$$[\alpha]_D = -62^\circ 30' \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{Solution à 1 g. p. 100 cm}^3. \\ \text{Déviation} = -1^\circ 45'. \end{array} \right.$$

3° Dans un mélange d'alcool méthylique et d'alcool éthylique à parties égales en volume.

$$[\alpha]_D = -74^{\circ}39' \left\{ \begin{array}{l} \text{Solution à } 0 \text{ g. p. } 100 \text{ cm}^3. \\ \text{Déviation} = -37'. \end{array} \right.$$

4° Dans un mélange contenant pour 100 cm³ : 35 cm³ d'alcool méthylique, 35 cm³ d'alcool éthylique, 30 cm³ d'eau distillée.

$$[\alpha]_D = -66^{\circ}40' \left\{ \begin{array}{l} \text{Solution à } 1 \text{ g. p. } 100 \text{ cm}^3. \\ \text{Déviation} = -1^{\circ}20'. \end{array} \right.$$

Il a été nécessaire pour provoquer la solubilisation de la rhaponticine dans les solvants précédents de plonger les flacons dans un bain-marie bouillant. C'est dans l'acétone aqueuse que la solubilisation est la plus facile et dans le mélange alcool éthylique et alcool méthylique anhydre qu'elle est la plus difficile. Cependant après refroidissement la solubilité est restée complète dans tous ces solvants.

Les déterminations précédentes ont été effectuées à la température du laboratoire : + 19°.

Solubilité. — La rhaponticine est insoluble dans l'eau, l'alcool absolu, l'alcool méthylique et l'acide acétique à froid ; très peu soluble à chaud. Elle est complètement insoluble dans l'éther, le chloroforme, le benzène, l'éther de pétrole.

Elle se dissout à chaud dans un mélange :

d'acétone et d'eau,

d'alcool éthylique et d'eau,

d'alcool méthylique et d'eau,

d'alcool éthylique et d'alcool méthylique,

d'alcool éthylique, d'alcool méthylique et d'eau.

Il existe pour chacun de ces solvants une quantité d'eau optima.

Le meilleur solvant de la rhaponticine est un mélange d'acétone et d'eau contenant 20 p. 100 d'eau en volume.

La rhaponticine est très facilement soluble dans les

solutions d'alcalis caustiques, moins facilement dans l'ammoniaque, elle est très peu soluble dans le carbonate de soude.

Contrairement à ce qu'ont affirmé les auteurs, nous n'avons jamais pu dissoudre sans coloration la rhaponticine à froid en présence d'air dans les solutions d'alcalis caustiques. Nous avons toujours obtenu une solution jaune brun clair. La coloration s'accroît peu à peu à froid, rapidement à chaud et devient presque noire.

B) Réactions colorées.

L'acide sulfurique concentré colore la rhaponticine en rouge orange foncé ; l'addition progressive d'eau donne d'abord une coloration orange plus claire, puis la solution devient trouble et laiteuse.

De toutes les réactions colorées de la rhaponticine, celle de l'acide sulfurique est la plus intense et la plus sensible. C'est elle qui nous a permis de mettre au point une méthode facile de recherche du Rhapontic dans les préparations galéniques de Rhubarbe.

L'acide azotique concentré colore la rhaponticine en brun, dilué en rouge brônâtre.

L'acide chlorhydrique ne donne lieu à froid à aucune coloration immédiate ; il se développe à la longue une coloration jaunâtre qui fonce peu à peu. Mais si on opère à l'ébullition puis si on laisse refroidir, la rhaponticine prend une belle coloration rose.

Comme l'a montré HESSE, et contrairement à ce qu'ont affirmé les autres auteurs, les solutions hydroalcooliques et hydroacétoniques de rhaponticine ne se colorent pas par le chlorure ferrique. La coloration bleu-verdâtre observée par les auteurs était donc due à une impureté.

C) Fluorescence à la lumière de Wood :

Le point de départ de notre travail fut de rechercher la substance contenue dans la poudre de Rhapontic qui confère à cette dernière une fluorescence violet-rouge lorsqu'on l'examine à la lumière de Wood.

WASICKY affirme avoir montré d'une façon certaine que cette fluorescence est due à la rhaponticine. FODOR et KICHLER confirment cette assertion.

Nous n'avons pas mis un seul instant en doute les résultats obtenus par ces auteurs. Cependant, il nous a paru nécessaire pour pouvoir porter une affirmation aussi absolue, d'étudier systématiquement à la lumière de Wood :

1° La fluorescence de la poudre de Rhapontic.

2° La fluorescence de la rhaponticine après l'avoir isolée et identifiée.

3° La fluorescence de la poudre de Rhapontic épuisée.

4° Vérifier si l'addition de rhaponticine à cette dernière, permet d'obtenir une fluorescence exactement semblable à celle que donne la poudre de Rhapontic pur.

Nous n'avons trouvé rien de semblable dans les travaux des auteurs précités. Nous pensons qu'ils ont basé leur affirmation sur deux faits qui nous ont paru devoir n'apporter qu'une probabilité, à savoir :

1° que la rhaponticine qu'ils ont utilisée et dont ils n'indiquent ni l'identité chimique, ni les constantes physiques, donne en lumière de Wood une fluorescence bleu-clair intense.

2° que la poudre de Rhubarbe pure additionnée de cette rhaponticine, donne dans les mêmes conditions une fluorescence analogue à celle de la poudre de Rhapontic.

Nous avons donc établi nos expériences en vue de transformer en certitude cette probabilité et nous avons fait les observations suivantes :

a) La poudre de Rhapontic examinée à la lumière de Wood présente une fluorescence violet rouge très apparente.

b) La rhapsonticine pure extraite de cette poudre présente, dans les mêmes conditions, une fluorescence bleu-violet très claire et très intense, mais différente cependant de la fluorescence violet rouge de la poudre de Rhapontic.

c) L'épuisement à l'acétone n'a pas complètement privé la poudre de Rhapontic de sa rhapsonticine, mais si la poudre épuisée montre encore une fluorescence violet-rouge, cette dernière est beaucoup moins intense, plus mate et avec une note dominante rouge.

d) Si on ajoute à cette poudre épuisée de la rhapsonticine pure, le mélange donne une fluorescence d'intensité proportionnelle à la quantité de rhapsonticine ajoutée mais toujours violet rouge, c'est-à-dire de même nature que celle que donne la poudre de Rhapontic pure.

L'addition de rhapsonticine à de la poudre de Rhubarbe pure donne lieu aux mêmes observations.

e) Enfin, si on ajoute de la rhapsonticine aux autres corps cristallisés jaunes et oranges que nous avons retirés du Rhapontic et dont l'ensemble donne une fluorescence orange, on obtient un mélange possédant une fluorescence violet rouge comparable à celle de la poudre de Rhapontic pur ; la fluorescence violette de ce mélange étant d'autant plus intense que la proportion de rhapsonticine est plus grande.

A la suite de ces observations il nous est permis de conclure : La fluorescence violet rouge que présente la poudre de Rhapontic pur soumise à la lumière de Wood est due à la superposition de la fluorescence propre de la rhapsonticine avec celles des autres constituants cristallins du Rhapontic.

Action des acides et des alcalis sur la fluorescence de la rhaponticine.

1. SUR LE PRODUIT CRISTALLISÉ. — On dispose sur une feuille de papier blanc non glacé, placée sous l'écran de Wood, quelques cristaux de rhaponticine. Ces derniers donnent la fluorescence bleu violet clair intense déjà observée.

On verse sur les cristaux une goutte de la solution d'ammoniaque au 1/10 : la fluorescence devient immédiatement jaune d'or et occupe toute la tache développée par le liquide autour des cristaux. Puis, au fur et à mesure que l'ammoniaque s'évapore cette fluorescence devient très claire presque blanche, pour faire place finalement à la fluorescence bleu violet initiale. Si au lieu d'ammoniaque on emploie de la soude diluée au 1/10 la fluorescence jaune d'or persiste. A la longue ou sous l'influence d'une goutte d'acide chlorhydrique au 1/10, elle se ternit et devient jaune verdâtre ; une deuxième goutte d'acide chlorhydrique au 1/10 fait apparaître immédiatement la fluorescence bleu violet intense de la rhaponticine pure.

2. FLUORESCENCE DES SOLUTIONS ALCALINES ET ACIDES DE RHAPONTICINE.

a) *Solution dans NH^3 au 1/10.* — Quelques cristaux de rhaponticine sont agités avec trois ou quatre cm^3 d'ammoniaque au 1/10. La solubilité paraît faible. On filtre. Le filtrat examiné à la lumière de Wood dans un tube de verre présente une fluorescence jaune d'or.

Quelques gouttes versées sur une feuille de papier blanc non glacé, donnent d'abord une fluorescence jaune d'or très claire qui brunit peu à peu. Si on incline le papier, la solution laisse sur son passage une trace à fluorescence jaune pâle qui devient rapidement blanc de lait intense, puis peu à peu par dessiccation bleu-vio-

let intense. Cette dernière fluorescence n'est pas modifiée par l'addition d'acide chlorhydrique au 1/10.

b) *Solution dans NaOH au 1/10.* — Quelques cristaux de rhaponticine sont agités avec 3 ou 4 cm³ de NaOH au 1/10. La dissolution est presque instantanée. Comme dans le cas précédent cette solution examinée dans un tube de verre présente une fluorescence jaune d'or intense. Cette fluorescence paraît plus claire si on observe quelques gouttes sur le papier. Elle est plus stable que celle de la solution ammoniacale et ce n'est qu'au bout de quelques minutes qu'elle devient jaune verdâtre plus terne. La trace laissée par la solution sur le papier lorsqu'on incline ce dernier, présente également une fluorescence blanc de lait intense, qui est aussi plus stable. Par dessiccation la fluorescence prend une teinte bleutée pâle, jamais bleu-violet intense. Par contre, celle-ci se développe immédiatement par addition d'acide chlorhydrique au 1/10.

Si on ajoute goutte à goutte de l'acide chlorhydrique au 1/10 dans les solutions ammoniacale et sodique de rhaponticine, la fluorescence n'est pas modifiée tout d'abord, puis elle passe brusquement aux environs de pH = 9 du jaune d'or au bleu-violet intense caractéristique de la rhaponticine, et cette dernière précipite.

c) *Solution dans l'acide chlorhydrique au 1/10.* — Quelques cristaux de rhaponticine sont agités avec 3 ou 4 cm³ d'acide chlorhydrique au 1/10. Il n'y a pas de dissolution appréciable ; néanmoins le filtrat incolore, donc examiné soit dans un tube, soit sur le papier la fluorescence bleu-violet clair caractéristique de la rhaponticine pure.

Les solutions hydroacétonique et hydroalcoolique de rhaponticine présentent la même fluorescence bleu-violet. Cette dernière n'est pas modifiée par addition d'eau. L'action des alcalis, puis des acides sur ces solutions donne lieu aux mêmes observations que précédemment.

CONCLUSION.

Comme Pont montré FODOR et KICHLER, la rhaponticine cristallisée ou en solution acide présente, examinée à la lumière de Wood, une fluorescence bleu-violet intense et en milieu alcalin une fluorescence jaune doré. Cette dernière est stable jusqu'aux environs de $\text{pH} = 9$.

MAHEU, dans un travail déjà cité sur l'essai des Rhubarbes par la fluorescence, essaya de déterminer la cause de la fluorescence violette des Rhapontics. Il isola la rhaponticine par le procédé de TSCHIRCH et fut assez surpris de constater que le produit obtenu présentait une fluorescence jaune d'or et non violette comme il s'y attendait. FODOR et KICHLER ont cru pouvoir expliquer cette anomalie en admettant que la rhaponticine isolée par MAHEU avait été purifiée en milieu alcalin.

Cette explication ne nous paraît pas devoir être retenue. En effet :

1° Le procédé de TSCHIRCH permet d'obtenir d'après son auteur un produit incolore. Or la rhaponticine de MAHEU est jaune d'or.

2° La purification de la rhaponticine par les alcalis donne un produit incolore, présentant une fluorescence bleu-violet.

3° Les solutions alcalines de rhaponticine présentent bien une fluorescence jaune d'or, mais la rhaponticine elle-même, quels que soient son degré de pureté et les conditions dans lesquelles elle ait été purifiée ne donne jamais une fluorescence jaune d'or.

Il nous paraît beaucoup plus probable que MAHEU n'a pas isolé la rhaponticine mais un des produits cristallisés jaune d'or analogue à ceux que nous avons retrouvés dans le Rhapontic. Parmi ceux-ci en effet, il en est qui se présentent en cristaux prismatiques jaunes donnant avec l'acide sulfurique une coloration rouge pourpre devenant peu à peu orange et présentant à la lumière de Wood une fluorescence jaune d'or intense,

Or, il est fort possible de confondre si on ne peut les comparer la coloration donnée par la rhaponticine et celle que donnent dans les mêmes conditions les produits jaunes cristallisés.

Enfin, au cours de nos essais sur la fluorescence de la rhaponticine, nous avons pu constater que ce glucoside n'est rigoureusement insoluble dans aucun solvant, ce qui montre en même temps l'extrême sensibilité de la réaction de fluorescence.

Les solvants sur lesquels ont porté nos expériences sont : l'eau, l'acétone, l'éther, l'alcool absolu, l'alcool méthylique, le chloroforme, l'éther acétique, le tétrachlorure de carbone, l'éther de pétrole, la benzine.

Quelques milligrammes de rhaponticine sont agités pendant 2 minutes avec 3 ou 4 cm³ de solvant. On filtre et le filtrat est examiné à la lumière de Wood sur du papier blanc non glacé. Il présente une fluorescence bleu-violet, beaucoup moins intense qu'en opérant avec des solvants dans lesquels la solubilité de la rhaponticine est complète, mais cependant très appréciable.

D) **Hydrolyse acide.**

L'hydrolyse de la rhaponticine est l'opération la plus importante pour l'étude de sa constitution chimique. Dans ce but, tous les auteurs ont eu recours à l'action de l'acide sulfurique à 5 p. 100 à l'ébullition. La plupart reconnaissent qu'étant donnée la facilité d'altération de l'aglycone l'opération doit être conduite avec beaucoup de soins.

Lorsqu'on traite au réfrigérant à reflux la rhaponticine par SO_3H^2 à 5 p. 100 il y a d'abord dissolution et le liquide devient limpide. En prolongeant l'ébullition il se produit au bout d'un temps variant de 1/4 d'heure à 1/2 heure suivant la quantité d'acide ajoutée un trouble indiquant le début de l'hydrolyse. Ce trouble persiste quelques minutes puis disparaît et la solution redevient limpide.

La rhapontigénine est ensuite extraite par agitation avec l'éther du liquide d'hydrolyse refroidi, la solution étherée est desséchée et évaporée. On obtient une masse cristalline jaune sale constituée par de la rhapontigénine impure. Cette dernière est purifiée par cristallisation dans l'alcool méthylique.

L'altération du produit est marquée par l'apparition de gouttelettes huileuses dans le liquide d'hydrolyse et dans le résidu d'évaporation de la solution étherée.

Dans le but d'éviter autant que possible cette altération, les auteurs ont réduit au minimum la durée de l'hydrolyse et évaporé la solution étherée sans l'action de la chaleur. TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI proposent même de ne chauffer la rhaponticine en présence d'acide sulfurique dilué que jusqu'à apparition du trouble et d'agiter immédiatement avec l'éther le liquide refroidi. Il n'est pas douteux que dans ces conditions l'hydrolyse est incomplète.

Aucun des auteurs n'indique le rendement obtenu en rhapontigénine pure par ce mode d'hydrolyse.

Nous avons effectué cette hydrolyse sulfurique en opérant dans les meilleures conditions indiquées. Nous n'avons jamais pu obtenir un rendement supérieur à 10 p. 100 en rhapontigénine pure cristallisée dans l'alcool méthylique, la quantité théorique étant de 60 p. 100 de la rhaponticine mise en œuvre.

Nous n'avons pu davantage isoler de l'alcool méthylique des cristaux parfaitement incolores. Ceux-ci sont bien incolores lorsqu'ils sont cristallisés au sein du liquide, mais dès qu'on les essore ils se ternissent et se colorent légèrement en jaune. Cette coloration s'accroît rapidement à l'air et à la lumière si le produit n'est pas parfaitement sec.

Des différentes expériences que nous avons effectuées relatives à l'hydrolyse sulfurique de la rhaponticine nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

1° Ce mode d'hydrolyse, quelles que soient les précautions apportées, provoque l'altération d'une grande partie de la rhapontigénine.

2° La rhapontigénine est un produit très altérable qui doit être conservé parfaitement sec à l'abri de l'air et de la lumière.

Malgré cela, GILSON en vue d'établir la formule de la rhaponticine effectue le dosage des produits d'hydrolyse. Il traite 1 g. de produit pendant 3/4 d'heure à l'ébullition par 50 cm³ d'acide sulfurique à 5 p. 100. Il pèse d'une part le résidu d'évaporation de la solution éthérée constitué dans ces conditions par une rhapontigénine très impure et altérée ; il pèse d'autre part le glucose cristallisé après une série d'opérations où les pertes sont cependant inévitables : neutralisation de l'acide sulfurique par le carbonate de plomb, filtration, évaporation de la solution, reprise par l'alcool méthylique, filtration pour séparer un produit brúnâtre insoluble (?), évaporation, cristallisation, dessiccation à 100° jusqu'à poids constant.

Dans de pareilles conditions les chiffres qu'il publie correspondent néanmoins aux résultats théoriques et lui permettent d'établir l'équation du dédoublement de la rhaponticine.

L'altération inévitable que subit une grande partie de l'aglycone au cours de l'hydrolyse acide est une des raisons pour lesquelles nous avons tenté de réaliser cette hydrolyse par les enzymes.

E) Hydrolyse biochimique.

En instituant en 1901 la méthode biochimique de recherche des glucosides hydrolysables par l'émulsine, Em. BOURQUELOT (1) et (2) avait énoncé la règle suivante :

(1) Em. BOURQUELOT. — Recherches, dans les végétaux, du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine, *C. R.*, 1901, **133**, 690. *Journ. Pharm. Chim.*, 1901, **14**, 481.

(2) Em. BOURQUELOT. — Sur la recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *Journ. Pharm. Chim.*, 1906, **23**, 369.

Tous les glucosides actuellement connus, hydrolysables par l'émulsine sont lévogyres et dérivent du β glucose *d*. Ils constituent la classe des glucosides β , hydrolysés par le ferment spécifique de ces glucosides contenu dans l'émulsine des amandes : la glucosidase β .

Il s'ensuit que tous les glucosides lévogyres fournissant du glucose *d*. par hydrolyse acide, doivent entrer dans la classe des glucosides β et doivent être par conséquent hydrolysables par la glucosidase β quelle que soit l'origine de ce ferment.

La rhaponticine, glucoside lévogyre, donnant par hydrolyse acide du glucose *d*, n'avait pu jusque là être hydrolysée par voie biochimique. La dernière tentative sans résultat fut celle de HOMSTRÖM en 1920.

Nous avons pu réaliser cette hydrolyse d'une façon indiscutable puisque nous avons isolé et identifié :

d'une part la rhapontigénine,

d'autre part le glucose *d*.

Cependant à cause de la lenteur avec laquelle s'effectue cette hydrolyse nous ne sommes pas en mesure de préciser avec certitude les meilleures conditions dans lesquelles il faut se placer.

Nous n'avons pas pu davantage réaliser une hydrolyse complète. Néanmoins nous pouvons affirmer que par un procédé que nous allons indiquer, il est possible de dédoubler la rhaponticine par l'émulsine et d'isoler du liquide d'hydrolyse une aglycone non altérée avec un rendement très supérieur à celui que permet d'obtenir l'hydrolyse sulfurique.

A) Hydrolyse de la rhaponticine en solution.

La première difficulté à laquelle nous nous sommes heurté dès le début de nos expériences réside dans l'insolubilité de la rhaponticine dans l'eau. Or la présence dans l'eau de solvants tels que l'acétone, l'alcool éthylique, l'alcool méthylique, nécessaires pour provoquer la solubilisation de la rhaponticine paralysent rapidement

à mesure que leur concentration augmente l'activité de l'émulsine (1).

Nous avons néanmoins fait nos premiers essais en utilisant des solvants au maximum de concentration en eau.

Soit :

1) Acétone	60 cm ³
Eau Q. S. P.	100 cm ³
2) Alcool éthylique	{ aa 35 cm ³
Alcool méthylique	
Eau Q. S. P.	
	100 cm ³

Nous avons opéré dans des Erlenmeyer de 150 cm³ avec pour chaque essai 1 g. de rhaponticine dissoute dans 100 cm³ de solvant et 0 g.,20 d'émulsine préparée par le procédé de H. HÉRISSEY.

Les flacons soigneusement bouchés ont été laissés à la température du laboratoire pendant toute la durée de l'expérience, mais agités plusieurs fois par jour.

Dans le tableau suivant nous avons consigné pour chaque essai et pour les différents témoins les résultats des lectures polarimétriques au tube de 2 dcm. effectuées directement sur les solutions filtrées :

A

Rhaponticine.....	1 g.
Emulsine.....	0 g.,20
Acétone.....	60 cm ³
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	— 1°6'
Le 19 — a =.....	— 1°6'
Le 23 — a =.....	— 1°2'
Le 30 — a =.....	— 1°
Le 7 Octobre 1933, a =.....	— 56'
Le 5 Février 1934, a =.....	— 42'
Le 9 Mai 1934, a =.....	— 38'
Le 10 Juin 1934, a =..	—

(1) Em. BOURQUELOT et Em. VERDON. — Action de l'émulsine sur la gentiopictine, en solution dans l'acétone et dans l'éther acétique. *Journ. Pharm. Chim.*, 1912, **5**, 534-539.

B

Rhaponticine.....	1 g.
Acétone.....	60 cm ³
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	— 1°6'
Le 19 — a =.....	— 1°6'
Le 23 — a =.....	—
Le 30 — a =.....	—
Le 7 Octobre 1933, a =.....	—
Le 5 Février 1934, a =.....	—
Le 9 Mai 1934, a =.....	—
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

C

Emulsine.....	0 g., 20
Acétone.....	60 cm ³
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	0
Le 19 — a =.....	0
Le 23 — a =.....	—
Le 30 — a =.....	—
Le 7 Octobre 1933, a =.....	—
Le 5 Février 1934, a =.....	—
Le 9 Mai 1934, a =.....	—
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

A'

Rhaponticine.....	1 g.
Emulsine.....	0 g., 20
C ² H ⁵ OH.....	} aa 35 cm ³
CH ³ OH.....	
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	— 1°6'
Le 19 — a =.....	—
Le 23 — a =.....	—
Le 30 — a =.....	— 1°4'
Le 7 Octobre 1933, a =.....	—
Le 5 Février 1934, a =.....	— 52'
Le 9 Mai 1934, a =.....	— 48'
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

B'

Rhaponticine.....	1 g.
CH ³ OH.....	} aa 35 cm ³
C ² H ⁵ OH.....	
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	— 1°6'
Le 19 — a =.....	—
Le 23 — a =.....	—
Le 30 — a =.....	—
Le 7 Octobre 1933, a =.....	—
Le 5 Février 1934, a =.....	—
Le 9 Mai 1934, a =.....	—
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

C'

Emulsine.....	0 g., 20
C ² H ⁵ OH.....	} aa 35 cm ³
CH ³ OH.....	
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	0
Le 19 — a =.....	—
Le 23 — a =.....	—
Le 30 — a =.....	—
Le 7 Octobre 1933, a =.....	—
Le 5 Février 1934, a =.....	—
Le 9 Mai 1934, a =.....	—
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

D

Sol de Glucose au 1/10.....	10 cm ³
Emulsine.....	0 g., 20
CH ³ OH.....	} aa 35 cm ³
C ² H ⁵ OH.....	
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	+ 1°4'
Le 19 — a =.....	+ 1°
Le 23 — a =.....	+ 36'
Le 30 — a =.....	+ 32'
Le 7 Octobre 1933, a =.....	+ 24'
Le 5 Février 1934, a =.....	— 2'
Le 9 Mai 1934, a =.....	—
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

E

Sol Glucose au 1/10	10 cm ³
C ² H ⁵ OH	} aa 35 cm ³
CH ³ OH	
Eau distillée Q. S. P.	100 cm ³
Le 16 Septembre 1933, a =.....	+ 1°4'
Le 19 — a =.....	—
Le 23 — a =.....	—
Le 30 — a =.....	—
Le 7 Octobre 1933, a =.....	—
Le 5 Février 1934, a =.....	—
Le 9 Mai 1934, a =.....	—
Le 10 Juin 1934, a =.....	—

L'examen de ce tableau montre que dans les flacons A et A' une hydrolyse très lente mais indéniable s'est effectuée et que cette hydrolyse est plus rapide et plus profonde pour la rhaponticine en solution hydroacétonique qu'en solution hydroalcoolique.

Ayant constaté que la rhapontigénine est sans action sur la lumière polarisée dans les solvants employés, et les témoins n'ayant pas varié, nous sommes en droit de penser que la variation du pouvoir rotatoire est due uniquement au glucose formé et qu'elle est quantitative. En évaluant cette variation à ~~26~~ pour l'essai A et à ~~16~~ pour l'essai A' le calcul donne les quantités respectives de glucose provenant de l'hydrolyse de 1 g. de rhaponticine : soit ~~0 g. 11 et 0 g. 25.~~ 0,10 et 0,14

Il s'ensuit que si l'on considérait seulement les résultats du dosage polarimétrique effectué dans ces conditions, on pourrait conclure à une hydrolyse à peu près totale de la rhaponticine en solution hydroacétonique et de 60 p. 100 environ de la rhaponticine en solution hydroalcoolique.

Lorsque nous avons commencé ces essais d'hydrolyse notre but était seulement de savoir si dans ces conditions l'hydrolyse était possible et dans ce cas quel rendement on pouvait en attendre. Cela afin de réa-

liser par la suite une hydrolyse permettant d'isoler une quantité suffisante d'aglycone en vue d'en étudier complètement la constitution chimique. C'est cette dernière hydrolyse que nous comptons suivre point par point afin de préciser les conditions les meilleures à sa réalisation.

C'est pour cette raison qu'au cours des essais précédents nous nous sommes contentés de mesurer le pouvoir réducteur au début et à la fin de l'opération, et que nous avons négligé de le faire pendant la marche de l'hydrolyse.

Or le dosage des sucres réducteurs par la méthode de BERTRAND nous a donné des résultats aberrants, totalement différents de ceux obtenus par le dosage polarimétrique. Nous donnons ces résultats ainsi que les essais que nous avons effectués pour essayer d'en expliquer l'anomalie sans d'ailleurs y parvenir.

Les dosages des sucres réducteurs ont été faits de la façon suivante :

On verse dans une capsule de verre 10 cm³ mesurés à la pipette du liquide d'hydrolyse préalablement agité. On évapore à sec au bain-marie. Le résidu est agité à plusieurs reprises (4 ou 5) avec chaque fois 3 ou 4 cm³ d'eau distillée et les eaux de lavage sont versées sur un petit filtre disposé au-dessus d'un flacon jaugé de 25 cm³. On ajoute dans chaque flacon 2 cm³,50 de réactif de Courtonne et on complète à 25 cm³ avec de l'eau distillée. On filtre en recueillant exactement 20 cm³ dans un flacon jaugé de 20 cm³. C'est sur ces 20 cm³ qu'on effectue le dosage des sucres réducteurs par la méthode de BERTRAND, en tenant compte pour le calcul que ces 20 cm³ correspondent au 4/5 du sucre réducteur contenu dans les 10 cm³ de la prise d'essai.

Le 16 septembre 1933, les solutions A, B, C, A', B', C', ont un pouvoir réducteur nul.

Le 10 juin 1934 les solutions A et A' ont un pouvoir réducteur, qui évalué en glucose et rapporté à 1 g. de rhaponticine est respectivement de 0 g.,08 et 0 g.,05 ;

les solutions B, C, B', C', ont toujours un pouvoir réducteur nul.

Ces chiffres ne permettant aucune comparaison avec les résultats du dosage polarimétrique nous avons procédé aux vérifications suivantes :

1° On a pesé à la balance de précision 2 prises d'essai de 0 g.,375 de glucose, qu'on a dissoutes, l'une dans le mélange acétone 60 cm³, eau Q.S.P. 100 cm³, l'autre dans le mélange :

Alcool éthylique.....	{	aa	35 cm ³
Alcool méthylique.....			
Eau distillée Q. S. P.....			100 cm ³

Ces solutions examinées au tube de 2 dcm. ont donné une déviation de + 24'. Le chiffre théorique obtenu par le calcul est également de + 24'.

2° Sur 10 cm³ de chaque solution on a effectué un dosage des sucres réducteurs par la méthode de BERTRAND en se plaçant exactement dans les conditions de ce dosage dans les liquides d'hydrolyse. On a trouvé 37 mg. de glucose, le chiffre théorique étant de 37 mg.,5.

3° 10 cm³ de chaque solution ont été évaporés à sec au bain-marie et le résidu lavé à plusieurs reprises avec quelques centimètres cubes d'eau distillée jusqu'à ce que la totalité des eaux de lavage soit exactement de 10 cm³. Cette dernière solution a été examinée au tube de 2 dcm. et la déviation observée de + 24'.

4° 10 cm³ du liquide A ont été soumis au même traitement. Nous avons été surpris d'observer alors une déviation de — 6'. Le liquide A' a donné dans les mêmes conditions une déviation de — 2', — 4'. Mais dans les mêmes conditions également les liquides B et C, et B' et C', se sont montrés sans action sur la lumière polarisée.

Il ne nous a pas été possible jusqu'à présent d'expliquer ces anomalies et cette discordance entre les dosages polarimétriques et chimiques.

Nous avons pu, par la méthode d'extraction des pro-

duits d'hydrolyse que nous exposerons par la suite, caractériser dans les liquides A et A' la rhapontigénine et le glucose mais en très faible proportion. L'extraction de la rhaponticine non hydrolysée nous a montré également que la quantité de glucoside dédoublée par ce moyen est très faible.

Il résulte de ces expériences :

1. Que la rhaponticine en solution hydroacétonique ou hydroalcoolique au maximum de concentration en eau, est hydrolysée faiblement sans doute mais d'une façon indéniable par l'émulsine.

2. Les dosages polarimétriques et chimiques ne nous ont pas permis, à cause des résultats discordants obtenus, de déterminer dans les conditions dans lesquelles nous avons opéré, la proportion de rhaponticine hydrolysée.

Ce mode d'hydrolyse ne présente donc qu'un intérêt théorique car il ne permet pas d'isoler une quantité appréciable d'aglycone. Nous avons pu atteindre ce but par le procédé suivant :

B) Hydrolyse de la rhaponticine en suspension dans l'eau.

Cette méthode nous a été inspirée par les travaux de BRIDEL (1) relatifs à l'hydrolyse par l'émulsine de l'asébotoside et du phlorizoside.

Ces deux glucosides présentent avec la rhaponticine deux points communs essentiels :

1° Ils sont pratiquement insolubles dans l'eau.

2° Ils étaient jusqu'aux travaux de BRIDEL considérés comme non hydrolysables par l'émulsine des amandes.

Cet auteur parvint à mettre en évidence l'hydrolyse

(1) M. BRIDEL. — Sur l'hydrolyse par l'émulsine de deux glucosides considérés comme non hydrolysables par ce produit fermentaire : asébotoside (asebotine) et phlorizoside (phlorizine). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 921-930.

de ces glucosides en suspension aqueuse. C'est le mode opératoire qu'il a préconisé que nous avons utilisé dans un premier essai.

Toutefois BRIDEL réalise cette hydrolyse grâce à une quantité considérable de ferment. C'est ainsi qu'il emploie pour 2 g. d'asébotoside 1 g. d'émulsine et pour 2 g. de phlorizoside 2 g. d'émulsine. Dans ces conditions, l'action de l'émulsine ne répond pas aux lois générales des actions fermentaires essentiellement définies par la disproportion qui existe entre les quantités de produit dédoublé et de ferment. Il serait donc logique de penser que dans ces hydrolyses réalisées par BRIDEL ce n'est pas l'émulsine qui a agi ou qu'en tous cas elle n'a pas agi seule.

Nous avons voulu en appliquant à l'hydrolyse de la rhaponticine le procédé de BRIDEL nous rendre compte de l'influence des proportions d'émulsine ; dans ce but nous avons utilisé des quantités croissantes de ferment :

Nous avons opéré de la façon suivante :

La rhaponticine cristallisée et l'émulsine sont pulvérisées finement au mortier. On fait ensuite avec 10 cm³ d'eau distillée une pâte homogène qu'on abandonne dans le mortier pendant une dizaine de minutes. Au bout de ce temps la pâte est délayée avec quelques centimètres cubes d'eau distillée de façon à entraîner la totalité du produit dans un Erlenmeyer de 250 cm³. La quantité totale d'eau distillée employée est de 100 cm³. On obtient ainsi une émulsion d'aspect laiteux assez peu stable ; mais le précipité qui par le repos tombe lentement au fond du flacon se remet facilement en suspension par agitation. On ajoute quelques gouttes de toluène, puis on met le flacon à l'étuve à 37°. On agite 4 à 5 fois par jour.

Au cours de l'hydrolyse le précipité et le liquide louche surnageant prennent une teinte jaune rosée très nette. La coloration rosée s'accroît au fur et à mesure de l'hydrolyse. Le dédoublement progressif de la rhaponticine a été suivi par l'examen polarimétrique et le dosage du sucre réducteur. Ces deux opérations ont été

effectuées sur le liquide d'hydrolyse déféqué de la façon suivante :

On prélève à la pipette 10 cm³ du liquide préalablement agité. On défèque par 1 cm³ de réactif de Courtonne et on filtre sur un flacon jaugé de 20 cm³. On lave à l'eau distillée jusqu'à ce qu'ont ait recueilli exactement 20 cm³. C'est sur ce filtrat qu'on effectue le dosage polarimétrique et le dosage des sucres réducteurs par la méthode de BERTRAND.

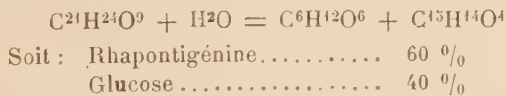
Nous avons eu à notre disposition pour faire les lectures polarimétriques une lampe à sodium, grâce à laquelle nous avons pu apprécier avec certitude une variation de 2' dans la déviation.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant et rapportés aux 100 cm³ de liquide d'hydrolyse.

Les calculs pour obtenir les résultats du dosage polarimétrique sont évidemment effectués en tenant compte de la déviation initiale due à une dissolution d'une très faible proportion de rhaponticine dans l'eau, et de la déviation due à l'émulsine.

Le tableau suivant montre que l'hydrolyse s'est arrêtée au bout de 3 mois et que l'emploi d'une grande quantité d'émulsine ne la rend pas sensiblement plus rapide ni plus profonde.

L'équation admise par les auteurs pour représenter le dédoublement de la rhaponticine est la suivante :



L'hydrolyse par l'émulsine dans les conditions de notre expérience n'a donc pas été complète. La rhaponticine a été dédoublée dans la proportion de 75 à 80 p. 100 ; proportion largement suffisante pour démontrer l'hydrolyse d'une façon indéniable et permettre l'extraction d'une quantité appréciable d'aglycone.

	Date	Déviatiôn observée	Dosage polarimétrique	Bertrand
A)	Rhaponticine.....			
	1 g.		0	0
	Emulsine.....		0.315	0.28
B)	Eau distillée.....		0.38	0.36
	100 cm ³		—	—
C)	Rhaponticine.....			
	2 g.		0	0
	Emulsine.....		0.57	0.53
D)	Eau distillée.....		0.68	0.715
	100 cm ³		—	—
E)	Rhaponticine.....			
	1 g.		0	0
	Emulsine.....		0.285	0.24
F)	Eau distillée.....		0.34	0.30
	100 cm ³		—	—
G)	Rhaponticine.....			
	1 g.		0	0
	Emulsine.....		0	—
H)	Eau distillée.....		—	—
	100 cm ³		—	—
I)	Rhaponticine.....			
	1 g.		0	0
	Emulsine.....		—	—
J)	Eau distillée.....		—	—
	100 g.		—	—

Après avoir isolé et caractérisé dans le liquide d'hydrolyse restant, d'une part la rhapontigénine, d'autre part le glucose *d.* par un procédé que nous indiquerons par la suite, nous avons effectué une hydrolyse en grand dans le but d'extraire l'aglycone.

L'émulsion a été préparée comme précédemment avec 12 g.,70 de glucoside, 2 g.,50 d'émulsine et 1.270 cm³ d'eau distillée, soit pour 1 g. de rhaponticine, 0 g.,20 d'émulsine et 100 cm³ d'eau. Cette émulsion a été versée dans un flacon de 1.500 cm³ soigneusement bouché et contenant quelques gouttes de toluène.

Un témoin a été préparé dans les mêmes conditions avec 2 g.,5 d'émulsine de 1.270 cm³ d'eau distillée.

Nous avons pensé que l'agitation favoriserait l'hydrolyse en augmentant sa rapidité et la rendrait peut-être plus complète. Dans ce but les deux flacons ont été successivement soumis pendant le jour à une agitation continue et la nuit laissés à l'étuve à 37°.

Comme nous avons employé des produits provenant de la même source que ceux que nous avons utilisés dans l'essai précédent, nous avons été très surpris de constater que l'hydrolyse s'effectuait beaucoup plus lentement. Pressé par le temps nous avons été dans l'obligation de procéder à l'extraction des produits de dédoublement avant que l'hydrolyse se soit arrêtée naturellement. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant. Ils expriment le glucose contenu dans 100 cm³ de liquide provenant par conséquent de l'hydrolyse de 1 g. de rhaponticine.

Comme nous avons à apprécier de faibles déviations polarimétriques et à doser de faibles quantités de sucre réducteur, nous avons évité les dilutions au cours de la défécation et opéré de la façon suivante :

Une prise d'essai de 20 cm³ du liquide d'hydrolyse préalablement agité est additionnée de 2 cm³ de réactif de Courtonne. On recueille exactement 20 cm³ de filtrat dans un flacon jaugé de 20 cm³, ce qui avec un petit filtre et un petit entonnoir ne présente aucune difficulté.

C'est sur ce filtrat qu'on effectue les lectures polarimétriques et le dosage du sucre réducteur par la méthode de BERTRAND en tenant compte de la dilution apportée par le réactif de Courtonne.

	Date	Déviati on observée	Dosage polari- métrique	Bertrand
Rhaponticine. 12 g.,70	13 juin 1934	— 4'	0	0
	29 — —	0	0 g.,125	0 g.,085
Emulsine..... 2 g.,50	16 juil. —	+ 2'	0 g.,125	0 g.,09
	7 sept. —	—	—	—
Eau distillée.. 1270 cm ³	2 oct. —	+ 4'	0 g.,16	0 g.,12
	13 juin 1934	0	0	0
Emulsine..... 2 g.,50	29 — —	— 4'	—	—
	26 juil. —	— 2'	—	—
Eau distillée.. 1270 cm ³	7 sept. —	—	—	—
	2 oct. —	—	—	—

Le temps d'arrêt indiqué par le tableau du 26 juillet au 7 septembre correspond à l'époque des vacances pendant lesquelles les 2 flacons sont restés au repos enfermés dans une armoire à la température du laboratoire. Néanmoins, même dans ces conditions l'hydrolyse a été poursuivie pendant un temps au moins égal à celui de l'essai précédent et la quantité de glucoside hydrolysé n'a été que de 25 à 30 p. 100 au lieu de 75 à 80 p. 100.

L'agitation, contrairement à ce qui se passe dans les hydrolyses biochimiques, a-t-elle nui à l'hydrolyse au lieu de la favoriser dans le cas particulier de la rhaponticine ? Un séjour constant à l'étuve est-il préférable ? Le fait de mettre en présence dans le même flacon des proportions relativement grandes de glucoside, de ferment et d'eau est-il néfaste ?

Nous n'avons pas eu le temps nécessaire pour effec-

tuer les expériences qui nous auraient permis de répondre à ces questions. Nous ne pouvons pas dire non plus à quelle étape du dédoublement se serait arrêtée naturellement l'hydrolyse si elle avait été poursuivie dans les mêmes conditions.

C) Extraction des produits d'hydrolyse.

Le liquide d'hydrolyse abandonné au repos laisse déposer un précipité jaune grisâtre présentant une légère teinte rosée, le liquide surnageant reste louche.

La rhapontigénine étant un peu soluble dans l'eau même froide, une partie se trouve en solution dans le liquide, l'autre, la plus grande, non dissoute dans le précipité. Le glucose est en solution dans le liquide.

Le précipité est recueilli sur un filtre, soigneusement lavé à l'eau distillée pour éliminer toute trace de glucose puis essoré à la trompe. Il est ensuite desséché dans le vide sulfurique pendant 24 heures. Il contient :

1° La plus grande partie de la rhapontigénine.

2° La rhaponticine non hydrolysée.

3° Les « constituants » de l'émulsine insolubles dans l'eau.

Le filtrat auquel sont réunies les eaux de lavage du précipité contient :

1° Une petite partie de la rhapontigénine passée en solution.

2° Le glucose.

3° Les « constituants » de l'émulsine solubles dans l'eau.

4° Probablement des traces de rhaponticine.

I) TRAITEMENT DU PRÉCIPITÉ.

a) *Extraction de la Rhapontigénine.* — L'extraction de la rhapontigénine est basée sur sa grande solubilité dans l'éther alors que la rhaponticine et l'émulsine sont

insolubles dans ce solvant. Elle est ensuite régénérée de sa solution étherée par précipitation par l'éther de pétrole dans lequel elle est insoluble.

Le précipité desséché et pulvérisé, est agité à plusieurs reprises avec de l'éther anhydre jusqu'à ce que ce dernier ne précipite plus par addition d'éther de pétrole. Quatre épuisements avec chaque fois 20 cm³ d'éther ont suffi. Les solutions étherées sont décantées, réunies et filtrées. On obtient ainsi environ 70 cm³ d'un liquide limpide mais nettement coloré en jaune brunâtre.

Cette solution étherée est concentrée au bain-marie jusqu'à la moitié de son volume, puis agitée avec 1 g. environ de noir animal. On filtre rapidement sur un vase à précipiter puis on rince avec 4 ou 5 cm³ d'éther anhydre. Le filtrat est presque complètement décoloré. On l'additionne alors d'éther de pétrole, d'abord goutte à goutte, puis centimètres cubes par centimètres cubes, jusqu'à ce qu'il ne se produise plus de précipité. La rhapontigénine précipite parfaitement blanche et cristallisée. On laisse déposer complètement dans un vase recouvert d'un verre de montre et placé à l'abri de la lumière. Lorsque le liquide surnageant est parfaitement limpide on le décante rapidement ce qui ne présente aucune difficulté, car la rhapontigénine adhère facilement aux parois du vase. Le vase et son contenu sont alors placés pendant 24 heures à l'abri de la lumière dans un excicateur à SO⁴H² dans lequel on a fait le vide. La rhapontigénine desséchée se détache facilement des parois du vase. Elle est recueillie dans un flacon bien sec et bien bouché et conservée dans l'obscurité.

Ainsi desséchée et bien qu'elle ait été précipitée parfaitement blanche par l'éther de pétrole, elle est très légèrement colorée en jaune ; cette coloration est due au contact inévitable de l'air et du produit imbibé d'éther de pétrole au cours de l'essorage. C'est pour cette raison que cette opération doit être effectuée le plus rapidement possible.

b) *Extraction de la Rhaponticine.* — Le résidu insoluble dans l'éther est épuisé à plusieurs reprises par de l'acétone contenant 25 parties d'eau jusqu'à ce que la totalité de la rhaponticine soit dissoute, c'est-à-dire jusqu'à ce que le résidu d'évaporation d'une goutte de solvant ne donne plus de coloration rouge orange par l'acide sulfurique concentré. La solution hydroacétonique colorée en jaune brun est agitée avec du noir animal. Le filtrat obtenu est à peu près incolore. On ajoute alors la quantité d'eau distillée nécessaire pour se placer dans les conditions du mélange de GILSON, puis on recueille la rhaponticine cristallisée et blanche par évaporation et refroidissement.

2. TRAITEMENT DU FILTRAT.

a) *Extraction de la Rhapontigénine.* — Le filtrat est agité avec de l'éther dans une ampoule à décantation jusqu'à ce que l'éther ne précipite plus par l'éther de pétrole. Il faut avoir soin d'agiter doucement car il se produit facilement une émulsion stable. La solution éthérée est ensuite desséchée sur du sulfate de soude anhydre, et filtrée. On continue alors l'opération exactement comme pour l'extraction de la rhapontigénine du précipité.

b) *Extraction du Glucose.* — Le liquide épuisé par l'éther est concentré au bain-marie ; il ne tarde pas à se former un louche puis un précipité qu'on sépare par filtration. On poursuit la concentration jusqu'à ce qu'il se forme un nouveau louche puis un nouveau précipité qu'on sépare de la même façon. Le liquide reste alors limpide même après une évaporation prolongée. Il est évaporé à siccité et le résidu est repris par l'alcool méthylique. On filtre puis on distille l'alcool méthylique. Le résidu de la distillation est dissous dans l'eau et la solution agitée avec du noir animal. Par filtration on obtient un liquide presque incolore. On l'évapore jusqu'à con-

sistance légèrement sirupeuse puis on l'abandonne au repos. Au bout de quelque temps le liquide se prend en une masse cristalline nettement colorée en jaune sale. Ce produit est dissous dans l'alcool méthylique, la solution filtrée et évaporée et le résidu repris par l'eau. Cette dernière solution est traitée au noir animal, concentrée jusqu'à consistance sirupeuse, et la masse cristalline obtenue par refroidissement, reprise par l'alcool méthylique dans lequel on la fait recristalliser. Elle est encore très légèrement colorée en jaune.

Identification du glucose.

1° Le sucre ainsi obtenu est entièrement et facilement soluble dans l'eau.

2° La solution réduit fortement la liqueur de FEHLING.

3° Il fond vers 143°.

4° Il donne une osazone qui après recristallisation dans l'alcool fond vers 204°-205°.

5° Son pouvoir rotatoire spécifique est de + 52°38'.

Le sucre qui se forme par hydrolyse biochimique de la rhaponticine est donc bien du *d.* glucose β .

Purification de la rhapontigénine.

La rhapontigénine a été purifiée par le moyen qui a servi à son extraction, c'est-à-dire par précipitation par l'éther de pétrole de la solution éthérée préalablement décolorée par le noir animal. Ce traitement a été répété jusqu'à ce que le point de fusion soit constant. Deux opérations ont suffi pour atteindre ce but.

C'est un échantillon du produit ainsi obtenu et desséché pendant deux heures dans le vide à la température d'ébullition du chloroforme qui a été soumis à l'analyse.

Les résultats ont été les suivants :

Substance	CO ²	H ² O	Calculé p. C ¹⁵ H ¹⁴ O ¹	Trouvé
3,719 mg.	9,481 mg.	1,920 mg.	C % = 69,76	69,30
			H % = 5,42	5,78

Principales propriétés de la rhapontigénine.

La rhapontigénine ainsi obtenue se présente sous forme de cristaux prismatiques microscopiques incolores se ternissant rapidement au contact de l'air et prenant peu à peu une teinte jaune sous l'influence de la chaleur ou de l'humidité.

1° *Solubilité.* — La rhapontigénine est peu soluble dans l'eau froide, un peu plus soluble dans l'eau chaude ; très soluble dans l'éther, l'acétone, l'alcool éthylique et l'alcool méthylique, l'éther acétique, la pyridine.

Insoluble dans le benzène, l'éther de pétrole, le chloroforme.

Soluble dans les solutions de soude caustique et d'ammoniaque. Ces solutions deviennent brunes au contact de l'air.

2° *Réactions colorées.* — Plusieurs lui sont communes avec la rhaponticine.

L'acide sulfurique concentré colore la rhapontigénine en rouge orange intense. L'addition de quelques gouttes d'eau rend la coloration plus pâle ; un excès d'eau provoque la précipitation de flocons blancs.

ClH la colore en rose faible. NO^3H en brun. Une réaction du même ordre a été signalée dans un travail récent par S. TUKATS (1). Elle utilise le pouvoir oxydant de l'acide sulfosélénique à 10 p. 100.

Les solutions de rhapontigénine se colorent en vert par le perchlorure de fer et en jaune par la solution d'hypochlorite de chaux.

Les solutions précipitent en jaune orangé par le réactif de Millon. Le précipité devient rouge brique à chaud. Cette réaction colorée est très sensible puisqu'elle est donnée très nettement par la solution aqueuse à froid qui ne contient que des traces de rhapontigénine.

(1) S. TUKATS. — Ueber eine Rheum-Handelssorte « Tai-Hwang », *Pharm. Monat.*, 1933, **14**, 35-36.

La solution de rhapsontigénine dans le carbonate de soude devient verte en présence de l'air ; cette coloration n'est pas instantanée, elle se fonce lentement. Après 48 heures elle est d'un vert intense.

3° *Point de fusion.* — Il a été pris au bloc de MAQUENNE et a donné lieu aux observations suivantes :

La rhapsontigénine commence à brunir vers 80° mais au-dessus de 120° le brunissement ne s'accroît pas sensiblement. Si à partir de 160° on projette sur le bloc une trace de rhapsontigénine, le produit fond en un liquide clair qui recristallise instantanément puis fond véritablement à 190°. Si on prélève une parcelle du corps recristallisé au-dessus de 160°, on constate qu'il subit la fusion instantanée à 190°. En revanche si la rhapsontigénine est déposée sur le bloc de MAQUENNE au-dessous de 160°, et si on laisse la température s'élever graduellement, on n'observe aucun phénomène de fusion avant 190°. Les mêmes observations ont été faites avec la rhapsontigénine obtenue biochimiquement quel que soit le solvant employé pour la cristallisation : eau, éther de pétrole, alcool méthylique.

Au contraire la rhapsontigénine isolée par hydrolyse acide et purifiée par recristallisation dans l'alcool méthylique ne donne pas lieu à ces observations et fond vers 181°-182°.

Il semble donc que l'on obtient directement par hydrolyse biochimique, une rhapsontigénine plus pure que par hydrolyse acide. D'ailleurs le point de fusion de 190° est celui de la rhapsontigénine de HESSE : rhapsontigénine isolée par hydrolyse sulfurique mais purifiée par régénération par l'acide chlorhydrique de son dérivé potassé, puis recristallisée à plusieurs reprises dans l'alcool méthylique.

Pour HESSE, le point de fusion de la rhapsontigénine absolument pure est donc de 190°. D'après cet auteur il existe dans le corps fondant à 181° une autre substance, vraisemblablement un produit de désagrégation de la

rhapontigénine elle-même, qu'il est possible de séparer par le mode de purification précédemment cité ou par régénération de la combinaison acétylée.

Il est donc vraisemblable, et c'est d'ailleurs une règle générale, qu'on obtient par hydrolyse biochimique un produit plus pur que par hydrolyse acide.

4° *Pouvoir rotatoire.* — La rhapontigénine en solution aqueuse, alcoolique ou acétonique est sans action sur la lumière polarisée.

5° *Fluorescence à la lumière de Wood.* — Nous avons observé cette fluorescence comme nous l'avions fait pour la rhaponticine en nous plaçant dans les mêmes conditions et en procédant aux mêmes expériences. Cet examen a donné lieu aux mêmes observations.

Les seules différences essentielles que nous ayons constatées entre la fluorescence de l'aglycone et celle du glucoside sont les suivantes :

A) La rhapontigénine pure donne en lumière de Wood une fluorescence bleu pâle, presque blanche mais très intense, différente de la fluorescence bleu-violet de la rhaponticine dans les mêmes conditions.

B) En revanche, par addition d'acide ou par neutralisation de ses solutions alcalines, la rhapontigénine n'apparaît plus avec sa fluorescence bleu pâle initiale, mais avec une fluorescence bleu-violet intense identique à celle de la rhaponticine.

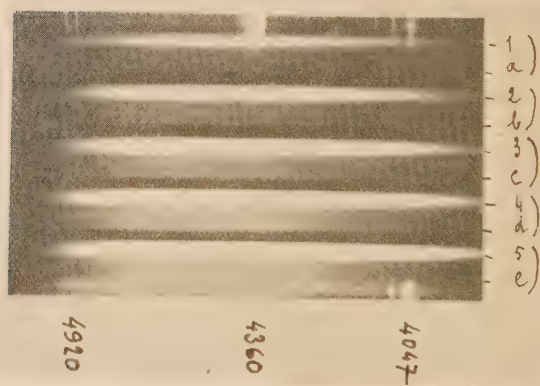
Ainsi dans la rhaponticine, la molécule de glucose modifie comme le ferait un acide la fluorescence de la rhapontigénine.

F) Comparaison des spectres de fluorescence et d'absorption dans l'ultra-violet, de la Rhaponticine, de la Rhapontigénine et de la poudre de Rhapontic (1).

I. — Clichés de fluorescence.

Ces clichés ont été effectués avec l'excitation correspondant à 3650 Å et se présentent de la façon suivante :

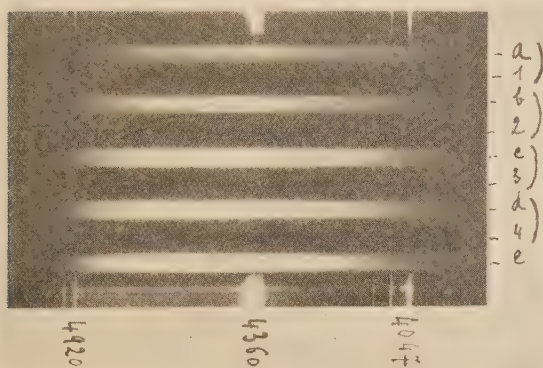
A) Rhaponticine	Rhapontigénine	Poses
1	a	1 minute
2	b	2 —
3	c	4 —
4	d	8 —
5	e	12 —



(1) C'est à M. ANDANT assistant de M. le Professeur COTTON au laboratoire des Recherches Physiques de la Sorbonne, que nous devons ces clichés. Il a bien voulu nous initier à ces questions toutes nouvelles pour nous. Nous tenons à lui exprimer ici notre reconnaissance pour l'excellent accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire et le temps qu'il nous a consacré sans compter.

L'examen de ce cliché montre que la rhapsodicine a une fluorescence nettement plus intense que la rhapsodigénine et son maximum s'étale plus fortement vers les grandes longueurs d'onde.

B) Rhapsodigénine	Poudre de Rhapsodic	Poses
a	1	2 minutes
b	2	4 —
c	3	8 —
d	4	12 —
e		20 —



Ainsi la poudre de Rhapsodic dont la fluorescence apparaît à l'œil violet-rouge ne donne pas de spectrogrammes dans les radiations bleues ou violettes.

II. *Clichés d'absorption.* — Spectrogrammes obtenus avec des solutions à 0 g.,02 pour 1.000 cm³ dans l'alcool à 60°.

Epaisseur variant de 45 mm. à 0 mm.

Durée d'enregistrement : 30 minutes.

Chutes importantes des deux défilés.

2400

2482

2536

2576

2652

2699

2743

2804

2893

2982

3028

3113

3211

3250

3311

3370

Division de l'altitude.

2400

2482

2536

2576

2652

2699

2743

2804

2893

2982

3028

3113

3211

3250

(W)

047

3370

Division de l'altitude.

2400

2482

2536

2576

2652

2699

2743

2804

2893

2982

3028

3113

3211

3250

047

3370

L'examen de ces clichés montre que la rhapontigénine est plus fortement absorbante que la rhaponticine.

Le maximum de transparence de la rhapontigénine est déplacé nettement du côté des petites longueurs d'onde par rapport à celui de la rhaponticine. Cette différence apparaît nettement sur les spectres imbriqués. La bande de transparence de la rhapontigénine a un maximum large vers 3.200-3.300 Å ; alors que la rhaponticine a une bande plus resserée vers 3.250 Å.

TROISIÈME PARTIE.

Recherche des falsifications de la Rhubarbe et de ses préparations galéniques par le Rhapontic.

Nos expériences ont porté :

1° Sur des préparations que nous avons effectuées suivant la méthode officinale.

2° Sur des préparations commerciales.

La matière première nous a été fournie par la maison SOSSLERT et DORAT. Nous avons eu ainsi à notre disposition :

a) De la Rhubarbe de Chine : *Rheum officinale* H. BN. ronde.

b) du Rhapontic de France : *Rheum Rhaponticum* L. provenant de la Drôme.

Des échantillons de ces produits ont été examinés en lumière de Wood.

Les morceaux de Rhubarbe de Chine ont donné une fluorescence brun marron veloutée, caractéristique comme l'a indiqué MAHEU, des Rhubarbes officinales. Ceux de Rhapontic ont présenté une fluorescence violet rouge très nette. Ce même Rhapontic nous a d'ailleurs servi à l'extraction de la rhaponticine ; c'est le moins riche en rhaponticine des deux Rhapontics que nous avons utilisés dans ce but.

A l'aide de ces matières premières nous avons préparé en suivant exactement les prescriptions du Codex de 1908, des poudres, des teintures et des extraits.

Des teintures et des extraits ont été préparés avec des poudres falsifiées à 10, 25 et 50 p. 100. On a préparé également des extraits et des teintures de Rhubarbe de Chine pure et de Rhapontic pur. Ceci dans le but de posséder des témoins qui ont servi d'autre part à effectuer par des mélanges convenables les falsifications inférieures à 10 p. 100.

Les méthodes que nous préconisons pour déceler les falsifications de la Rhubarbe et des ses préparations par le Rhapontic, sont au nombre de deux.

La première utilise la réaction colorée que donne la rhaponticine avec l'acide sulfurique concentré.

La deuxième, la fluorescence bleu-violet intense de cette même rhaponticine à la lumière de Wood.

Mais ni l'une ni l'autre de ces méthodes, n'implique l'isolement ou la cristallisation de la rhaponticine.

Il est évident que la sensibilité de ces deux procédés dépend uniquement de la teneur en rhaponticine de la préparation examinée ; or cette teneur est très différente suivant les Rhapontics. Il serait donc illogique de prétendre déterminer sur un échantillon commercial le taux de la falsification évaluée en pourcentage de Rhapontic.

Le Rhapontic que nous avons utilisé pour falsifier nos préparations est relativement très pauvre en rhaponticine. Il n'est donc pas douteux que les procédés que nous indiquons peuvent permettre de déceler la falsification quel que soit le Rhapontic utilisé.

PREMIER CHAPITRE.

Méthode utilisant la réaction à l'acide sulfurique concentré.

Nous avons vu que parmi les réactions colorées de la rhaponticine, la plus intense est la coloration rouge orange qu'elle donne avec l'acide sulfurique concentré.

Cette réaction est encore positive et avec une très grande intensité, lorsqu'on fait agir directement l'acide sulfurique concentré sur les préparations de Rhapontic pur : poudres, extraits, résidus d'évaporation des teintures. Mais dans les mêmes conditions, les préparations correspondantes de Rhubarbe pure donnent une coloration qui est très voisine : marron orange au lieu de rouge orange. La seule différence nettement visible porte sur l'intensité de la coloration plutôt que sur sa nature ; la coloration étant beaucoup plus intense avec les préparations de Rhapontic qu'avec celles de Rhubarbe.

L'action directe de l'acide sulfurique sur une préparation de Rhubarbe falsifiée est donc nettement insuffisante pour y déceler le Rhapontic.

Pensant qu'on pouvait tirer un grand parti de la différence d'intensité entre les deux colorations précitées, nous avons cherché à supprimer la réaction donnée par la Rhubarbe et à ne conserver que celle donnée par la rhaponticine.

Après de nombreux essais nous sommes parvenus à ce but par des procédés un peu différents : nous préconisons le plus simple qui est le suivant ;

1° *Essai sur les poudres :*

3 grammes de poudre environ sont additionnés de 20 cm³ d'acétone dans un flacon dont le bouchon est traversé par un long tube de verre servant de réfrigérant. On porte sur un bain-marie et on maintient l'ébullition pendant 1/4 d'heure. Au bout de ce temps on agite le contenu du flacon avec du noir animal et on jette sur un filtre. Quel que soit le taux de la falsification, le filtrat est toujours coloré très légèrement en marron verdâtre. Dans une petite capsule de porcelaine on recueille environ 1 cm³ de filtrat qu'on évapore au bain-marie en manipulant la capsule de telle façon que le résidu d'évaporation se répande uniformément sur les parois. Après évaporation à sec, ce qui demande une minute environ, on laisse refroidir. On fait ensuite tomber sur le résidu une goutte d'acide sulfurique concentré.

Si la poudre initiale contient du Rhapontic, la présence de ce dernier est décelée par l'apparition d'une coloration rouge orange au contact *immédiat* de l'acide sulfurique et du résidu d'évaporation de l'acétone. La poudre de Rhubarbe pure, traitée dans les mêmes conditions, ne donne pas de coloration instantanée, mais seulement au bout de quelques secondes une coloration brun marron devenant de plus en plus foncée.

L'intensité de la coloration rouge orange est évidemment proportionnelle à la quantité de rhaponticine et partant à celle de poudre de Rhapontic. Nous avons pu cependant apprécier ainsi facilement une falsification à 5 p. 100 avec notre Rhapontic pourtant pauvre en rhaponticine. La limite de la réaction a été atteinte pour une falsification à 2,5 p. 100.

2° *Essai sur les extraits :*

On opère exactement de la même façon avec une prise d'essai voisine de 1 g. et 20 cm³ d'acétone, mais en ayant soin de brasser la masse d'extrait au cours de l'ébullition de l'acétone.

Nous avons pu déceler ainsi une falsification à 2 p. 100.

3° *Essai sur les teintures :*

20 cm³ de teinture sont évaporés au bain-marie jusqu'à résidu sirupeux puis additionnés de 20 cm³ d'acétone. On continue ensuite l'opération comme précédemment.

C'est avec les teintures que cette réaction est la moins sensible ; nous n'avons pas pu en effet déceler avec facilité une falsification inférieure à 10 p. 100.

Précautions à prendre.

1. Laisser refroidir la capsule avant de faire la réaction à l'acide sulfurique et n'observer que la coloration qui se produit *instantanément* au contact de l'acide sulfurique.

En effet la réaction colorée donnée par l'acide sulfurique est suivie d'une réaction d'oxydation et de destruction de la matière organique qui donne une coloration marron clair devenant peu à peu brun foncé. Or cette dernière réaction est d'autant plus rapide que la température est plus élevée. Comme l'utilisation de cette réaction colorée de la rhaponticine implique l'observation de la coloration immédiate, on comprend aisément que lorsque la falsification est faible, si l'on opère à chaud, la coloration rouge orange puisse être en partie masquée par la superposition de la réaction d'oxydation.

2. La quantité de noir animal ne doit pas être inférieure à 1 g. ni supérieure à 2 g.

3. La grande pratique de la réaction à l'acide sulfurique au cours de nombreux essais, nous a permis de déceler facilement les falsifications aux taux que nous avons indiqués, sans que nous ayons eu besoin pour cela d'opérer chaque fois en présence d'une préparation témoin de Rhubarbe pure. Cependant, nous conseillons à un opérateur non exercé d'opérer en présence de ce témoin pour apprécier des falsifications correspondant à un taux inférieur à 10 p. 100, avec un Rhapontic qui au-

rait en rhaponticine la même teneur que celui que nous avons utilisé.

Au-dessus de 10 p. 100 la réaction ne permet aucun doute, même sans témoin et sans pratique.

Mécanisme de la réaction.

L'emploi du noir animal est basé sur une observation réalisée lors de l'extraction de la rhaponticine. Nous avons en effet utilisé le noir animal pour la purifier. Or plusieurs auteurs ont prétendu que les charbons actifs adsorbent une grande quantité de rhaponticine. Nous avons donc essayé de récupérer la rhaponticine fixée sur le noir animal. Pour cela nous avons soumis ce dernier à l'action de l'acétone contenant 25 p. 100 d'eau, en maintenant l'ébullition pendant une heure. Nous n'avons pu recueillir dans le filtrat qu'une très petite quantité de rhaponticine.

Un traitement identique des noirs ayant servi à la purification des autres corps cristallisés jaunes et oranges que nous avons isolés du Rhapontic, nous a permis au contraire de récupérer une quantité appréciable de ces produits.

Il nous a alors paru logique d'en déduire que le noir animal adsorbe presque électivement les autres produits du Rhapontic sans toucher ou très peu à la rhaponticine. Nous avons pensé qu'il en serait de même pour les constituants de la Rhubarbe et en particulier pour les oxy-méthylanthraquinones qui donnent avec l'acide sulfurique une coloration rouge. Cette dernière réaction étant probablement celle qui masque la coloration due à la rhaponticine lorsqu'on effectue directement la caractérisation sur la préparation falsifiée sans traitement préalable.

L'application du procédé dont nous venons d'exposer le mode opératoire semble bien confirmer cette action du noir animal.

Pour en obtenir une preuve supplémentaire nous avons étudié la variation de la fluorescence sous l'action du noir animal.

Les essais ont porté sur une poudre de Rhubarbe contenant 10 p. 100 de notre Rhapontic de France. La solution acétonique a été examinée à la lumière de Wood avant et après l'addition de noir animal.

Dans le premier cas la solution examinée dans un tube présente une fluorescence violet-rougeâtre foncé, peu intense ; la fluorescence dominante étant jaune marron.

Quelques gouttes de cette solution versée sur un morceau de papier filtre donnent instantanément une fluorescence marron verdâtre, sur les bords de laquelle se développe presque immédiatement une fluorescence violet-rouge, qui peu à peu, par évaporation de l'acétone envahit toute la tache. Finalement on obtient une tache présentant une fluorescence violet-rouge uniforme.

Après l'action du noir animal la solution acétonique examinée dans un tube présente encore une légère fluorescence jaune verdâtre, mais cette fois, c'est la fluorescence violette qui domine. Cette fluorescence est d'autre part d'un violet plus clair, plus intense, beaucoup moins rouge que dans le premier cas et très près de la fluorescence que donne la rhaponticine pure.

Quelques gouttes de cette solution versée sur une feuille de papier filtre donnent immédiatement au centre de la tache une fluorescence jaune verdâtre très faible tandis qu'il se développe en même temps à partir des bords une fluorescence bleu-violet très lumineuse qui envahit rapidement toute la tache.

Ainsi l'action du noir animal

1° A diminué considérablement les fluorescences autres que celle de la rhaponticine.

2° A intensifié et modifié l'aspect de la fluorescence violette en la rapprochant de celle de la rhaponticine pure.

Il semble donc que le noir animal adsorbe peu de rhaponticine par rapport aux autres principes de la Rhubarbe ou du Rhapontic donnant avec l'acide sulfurique une réaction colorée susceptible d'être confondue avec celle de la rhaponticine.

Remarques.

Qu'il s'agisse d'une poudre, d'un extrait ou d'une teinture, la plupart des opérations que nécessite l'application du procédé préconisé par nous sont les mêmes. Aussi afin d'éviter des manipulations inutiles, conseillons-nous l'emploi d'un petit appareil très simple permettant indifféremment l'étude de l'une ou l'autre des trois préparations de Rhubarbe.

C'est un flacon de 40 cm³ de capacité à large ouverture et à fond plat. Ce flacon est muni d'un bouchon percé de deux trous. Dans l'un passe un tube de verre de 60 cm. environ servant de réfrigérant à reflux, dans l'autre un agitateur qui sera utilisé pour faire le prélèvement d'extrait et brasser la masse au cours de l'ébullition de l'acétone.

Pour examiner une poudre, on place directement celle-ci dans le flacon, on ajoute l'acétone puis on porte au bain-marie. Après un quart d'heure d'ébullition on ajoute le noir animal et on agite. On filtre et on recueille environ 1 cm³ de filtrat. On continue ensuite l'opération comme il a été dit. La manipulation exige environ 20 minutes.

Pour examiner un extrait on fait le prélèvement avec l'agitateur puis on opère exactement comme dans le cas précédent, mais en brassant la masse avec l'agitateur au cours de l'ébullition de l'acétone. Le résultat est également obtenu en 20 minutes.

L'examen de la teinture exige son évaporation préalable. On effectue cette évaporation au bain-marie ; c'est dans ce but qu'on utilise un flacon à fond plat et à large ouverture. Le résidu d'évaporation est ensuite traité comme l'extrait. La manipulation exige environ 40 minutes.

Il est possible d'appliquer ce procédé en utilisant des prises d'essai et des quantités de solvant deux et même quatre fois moindres que celles que nous avons indiquées. Toutefois les doses que nous préconisons nous paraissent être les plus commodes dans la pratique courante.

Nous avons examiné à l'aide de ce procédé quelques échantillons commerciaux et nous avons pu constater que la plupart d'entre-eux n'étaient pas falsifiés.

C'est ainsi que nous n'avons décelé aucune falsification dans les préparations suivantes :

- 1° Un extrait aqueux sec de Rhubarbe provenant de la maison A.
- 2° Un extrait D. Codex 1908.
- 3° Deux extraits D. Codex 1908.
- 4° Un extrait D. Codex 1908.
- 5° Un extrait de la P. C.
- 6° Un extrait du Laboratoire V.
- 7° Un extrait de l'Hôpital de la Pitié.
- 8° Un extrait mou alcoolique D.
- 9° Une teinture de la P. C.
- 10° Deux teintures de l'Hôpital de la Pitié.
- 11° Une poudre de la P. C. H.

Nous avons en revanche décelé une falsification très nette sur des comprimés de Rhubarbe provenant d'une infirmerie régimentaire. Dans ce dernier cas d'après l'intensité de la réaction à l'acide sulfurique on pourrait admettre, si le Rhapontic utilisé pour la falsification avait la même teneur en rhaponticine que celui qui a servi à nos préparations, que la falsification est de 60 p. 100 environ.

DEUXIÈME CHAPITRE.

Méthode utilisant la fluorescence à la lumière de Wood.

Nous avons vu, dans l'historique de ce travail, que les principaux travaux relatifs à l'examen des préparations de Rhubarbe par la fluorescence sont ceux de MAHEU, WASICKY, de FODOR et KICHLER ; ces auteurs ayant également étudié la fluorescence de la rhaponticine dans diverses conditions. Nous avons résumé ces travaux sans parler des observations qu'ils nous ont suggérées lorsque nous avons voulu les reprendre. C'est le but que nous nous proposons ici avant d'exposer nos recherches.

Méthode de MAHEU :

1° EXAMEN DES POUDRES. — Comme l'a fait remarquer MAHEU nous avons pu observer avec quelle rapidité diminue la fluorescence violet-rouge caractéristique du Rhapontic à mesure qu'augmente la proportion de poudre de Rhubarbe. Par cette méthode, et avec le Rhapontic que nous avons utilisé, il nous a été impossible de déceler une falsification inférieure à 20 p. 100.

2° EXAMEN DES TEINTURES. — L'auteur n'indique aucune expérience portant sur les teintures falsifiées.

En suivant son procédé nous n'avons pas pu observer une différence de fluorescence suffisante pour distinguer avec certitude une teinture de Rhubarbe pure d'une teinture de Rhapontic pur préparées suivant la méthode of-

ficinale. Raison de plus s'il s'agit d'une teinture falsifiée.

Cette méthode nous a donc paru peu sûre.

3° EXAMEN DES EXTRAITS. — Pas plus que pour les teintures l'auteur n'étudie les falsifications.

L'examen de la solution alcoolique d'extrait, dans les conditions de l'essai de MAHEU, ne nous a pas permis d'observer une différence de fluorescence appréciable, même entre un extrait de Rhubarbe pure et un extrait de Rhapontic pur. Il est à supposer que l'auteur n'a pas indiqué, avec suffisamment de précision, les manipulations qu'il a du effectuer.

En conclusion, la méthode de MAHEU présente une valeur certaine pour l'examen des poudres de Rhubarbe et doit permettre de déceler la plupart des falsifications courantes. On ne peut lui reprocher qu'une sensibilité un peu trop faible et d'exiger l'emploi de témoins : poudre de Rhubarbe pure et poudre de Rhapontic pur.

Par contre elle est nettement insuffisante pour l'examen des teintures et des extraits.

Méthodes de WASICKY, de FODOR et KICHLER :

Ces auteurs ont appliqué leurs méthodes à des préparations effectuées selon les prescriptions de la Pharmacopée allemande. Nous avons essayé d'étendre leurs procédés aux préparations de la Pharmacopée française qui sont totalement différentes. C'est peut-être à ces différences que nous devons de ne pas avoir obtenu la sensibilité et la commodité que nous étions en droit d'attendre d'elles. Toutefois, les observations que nous avons faites au cours de nos essais sont d'ordre général, puisque ce doit être la présence de la rhaponticine qui importe, plutôt que la façon dont la préparation à examiner a été effectuée.

C'est ainsi que l'emploi d'un alcali pour faire apparaître la fluorescence jaune d'or nous a paru tout à fait inutile, la fluorescence violette étant beaucoup plus fa-

cile à observer. La distinction avec la teinture de Rhubarbe falsifiée à 10 p. 100 que nous avons préparée est cependant possible par ce moyen ; mais il est nécessaire, dans ce dernier cas, d'opérer en présence d'une teinture témoin de Rhubarbe pure qui donne dans les mêmes conditions une fluorescence vert-bleuâtre veloutée.

Ce qui nous a paru le plus net dans cette action des alcalis sur les préparations de Rhubarbe falsifiées, c'est la fluorescence blanc de lait intense devenant très légèrement bleutée puis un peu jaune, qui se développe autour de la tache jaune verdâtre centrale. Cette fluorescence blanche est encore visible bien que très faiblement, pour une falsification à 10 p. 100. La réaction est rendue plus sensible si au lieu de lessive de soude on emploie de l'ammoniaque. A mesure que l'alcali s'évapore la fluorescence blanche développée tout d'abord fait place peu à peu à la fluorescence bleu-violet caractéristique de la rhaponticine.

La méthode basée sur la capillarité ne nous a pas donné non plus des résultats aussi précis que nous l'espérons. Les différentes zones de fluorescence d'intensité décroissante avec la teneur en rhaponticine sont difficiles à apprécier. Enfin et surtout, là encore, la méthode nous a paru comporter des complications inutiles puisque nous avons pu obtenir beaucoup plus facilement une sensibilité plus grande.

C'est à la suite d'études sur la fluorescence de la rhaponticine dans diverses conditions que nous préconisons la méthode suivante :

Quelques cristaux de rhaponticine pure disposés sur un papier filtre et examinés à la lumière de Wood donnent une fluorescence bleu-violet intense. Si on laisse tomber une goutte d'eau sur ces cristaux, la tache développée autour de la rhaponticine par l'étalement de l'eau prend rapidement la même fluorescence bleu-violet intense, l'intensité de cette fluorescence augmentant encore par dessiccation. Tout se passe comme si une partie de la rhaponticine était dissoute par l'eau et que la solution

en s'étalant rende plus apparente la fluorescence préalablement localisée sur les cristaux.

Nous avons pensé qu'il était possible d'appliquer ce moyen à l'examen des préparations contenant du Rhapontic de façon à « séparer » en quelque sorte de ces préparations la fluorescence propre de la rhaponticine.

L'expérience a entièrement confirmé cette hypothèse.

1° EXAMEN DES POUDRES.

On place quelques centigrammes de poudre sur un carré de papier filtre de 10 cm. de côté environ. On laisse tomber goutte à goutte sur cette poudre de l'eau distillée de façon à imbiber complètement la prise d'essai. Autour de cette dernière, la partie du papier filtre imbibée par l'eau prend immédiatement une fluorescence bleu-violet intense si la poudre examinée contient du Rhapontic. Cette fluorescence est identique à celle de la rhaponticine pure et différente de celle beaucoup moins intense et violet-rouge que donne la poudre de Rhapontic elle-même lorsqu'on l'examine directement sans addition d'eau.

Nous avons pu déceler facilement par cette méthode une falsification à 5 p. 100. A ce taux la fluorescence bleu-violet est encore apparue nettement et presque immédiatement.

La substitution à l'eau distillée d'acide chlorhydrique au 1/10 a accentué très sensiblement cette fluorescence et a permis de déceler une falsification à 1 p. 100. La fluorescence n'est apparue qu'au bout d'une minute et quoique très visible est toujours demeurée très faible. A ce taux l'action de l'eau distillée seule ne nous a pas permis d'observer une fluorescence violette même après dessiccation complète.

Avant d'utiliser l'eau distillée, puis l'acide chlorhydrique au 1/10 nous avons tout naturellement pensé à employer l'acétone dans les mêmes conditions, puisque ce solvant nous avait servi à l'extraction de la rhaponti-

cine. La fluorescence développée ainsi sur la poudre de Rhapontic pur est très apparente mais d'un violet plus rouge, plus mat, moins clair et surtout beaucoup moins lumineux que celui donné par la seule action de l'eau distillée ou de l'eau chlorhydrique. Bien que d'une intensité beaucoup plus grande cette fluorescence semble de même nature que celle donnée à l'examen direct par la poudre de Rhapontic pur. Nous avons donc tout d'abord rejeté l'emploi de l'acétone sans l'essayer sur des falsifications très faibles.

Or en réalité, bien que la fluorescence développée par l'action de l'acétone soit moins éclatante que par l'action de l'eau, la réaction est cependant plus sensible. Pour une teneur en poudre de Rhapontic supérieure à 1 p. 100 la fluorescence est apparue instantanément, l'acétone s'évaporant très rapidement.

Pour une falsification à 1 p. 100 la fluorescence n'est pas apparue immédiatement sur toute la surface de l'étalement mais progressivement à partir des bords de la prise d'essai jusqu'à la limite de la zone imbibée par l'acétone. Au bout d'une minute elle a atteint son intensité maxima. L'addition d'acide chlorhydrique au 1/10 la rend plus lumineuse et plus clair et partant plus sensible.

C'est ainsi qu'en combinant l'action de l'acétone et de l'acide chlorhydrique au 1/10 nous avons pu déceler dans la poudre de Rhubarbe la poudre de Rhapontic à la dose de 1 p. 1000. La fluorescence violet-rouge clair qui se développe sur les bords de la préparation, bien que faible, ne permet aucun doute.

On peut au lieu d'acétone employer n'importe quel autre dissolvant, à condition toutefois que le milieu ne soit pas alcalin, auquel cas on obtient une fluorescence jaune d'or qui d'ailleurs devient bleu-violet par addition d'acide. Néanmoins le solvant de choix quant à la sensibilité de la réaction est l'acétone.

En résumé l'action de l'eau distillée seule permet de déceler très facilement toutes les falsifications courantes,

l'action de l'acide chlorhydrique au 1/10 augmente nettement la sensibilité de cette réaction, laquelle est encore accrue par l'emploi de l'acétone. Enfin en combinant l'action de l'acétone et celle de l'acide chlorhydrique au 1/10 on peut déceler dans une poudre de Rhubarbe des traces de Rhapontic.

Dans les mêmes conditions la poudre de Rhubarbe de Chine pure donne autour de la prise d'essai dans la région imbibée par le solvant, une fluorescence jaune verdâtre sale peu intense, qui ne gêne jamais l'observation de la fluorescence violette.

2° EXAMEN DES EXTRAITS.

Il est impossible par l'examen direct à la lumière de Wood de distinguer avec certitude un extrait de Rhubarbe pure d'un extrait de Rhapontic pur.

Nous avons appliqué à l'examen des extraits la méthode précédente qui s'est également révélée d'une grande sensibilité.

On prélève avec un agitateur 10 centigrammes d'extrait environ qu'on étale sur un carré de papier filtre. On place le papier sous l'écran de Wood puis on opère exactement comme pour l'examen de la poudre. Les résultats obtenus sont identiques quant à l'intensité de la fluorescence et à sa nature. Par l'emploi combiné de l'acétone et de l'acide chlorhydrique au 1/10 nous avons décelé avec une grande facilité une falsification à 1 p. 100. La fluorescence obtenue est apparue au moins aussi intense que pour la poudre de Rhubarbe falsifiée au même taux.

Il est donc également possible de déceler par ce moyen des traces de Rhapontic dans les extraits de Rhubarbe falsifiés.

3° EXAMEN DES TEINTURES.

On fait tomber sur un morceau de papier filtre quelques gouttes de teinture. On laisse sécher et on examine à la lumière de Wood.

Dans ces conditions, la teinture de Rhubarbe pure donne une fluorescence brun marron, celle du Rhapontic une fluorescence violet-rouge intense. La teinture de Rhubarbe falsifiée à 25 p. 100 donne cette fluorescence avec presque autant d'intensité que la teinture de Rhapontic pur. Pour une falsification à 2 p. 100 la fluorescence violet-rouge est encore très visible. Elle n'est pas modifiée sensiblement par l'action de l'acide chlorhydrique au 1/10. En revanche l'acétone l'accroît très nettement. Il suffit de verser quelques gouttes de ce solvant sur l'étalement desséché de la teinture ; l'acétone imprègne le papier filtre et déborde en dehors de l'étalement de la teinture. Or, dans cette dernière partie il se développe une fluorescence violet clair d'autant plus intense que la falsification est plus importante. D'autre part l'étalement de la teinture lui-même lorsqu'il est touché par l'acétone présente une fluorescence nettement plus violacée et moins rouge qu'avant l'action de ce solvant ; il est entouré d'une sorte de liseré à fluorescence jaune clair presque blanche mais intense.

Nous avons pu par ce moyen déceler dans une teinture de Rhubarbe une falsification à 0,50 p. 100.

Ainsi la méthode que nous préconisons s'applique aussi bien à l'examen de la drogue entière qu'à celui des préparations galéniques. Elle permet de déceler avec une très grande facilité et une grande netteté les falsifications courantes. La sensibilité est extrême puisqu'il est possible, dans les conditions que nous avons précisées, de déceler surtout dans les poudres et les extraits de Rhubarbe falsifiés des traces de Rhapontic ; ceci est sans intérêt évidemment pour les produits commerciaux.

Application de la méthode utilisant la fluorescence à l'essai des préparations commerciales.

Nous avons appliqué la méthode qui vient d'être exposée à l'essai des préparations commerciales que nous avons déjà examinées par le procédé utilisant la réac-

tion à l'acide sulfurique. Les résultats obtenus ont été absolument concordants puisque nous n'avons décelé le Rhapontic que dans les comprimés de Rhubarbe. La fluorescence bleu-violet que présente ces derniers par la seule action de l'eau est extrêmement intense.

Examen des résidus des préparations galéniques.

Il était intéressant d'examiner aussi bien par la méthode à l'acide sulfurique que par la fluorescence, les résidus de préparation des teintures et des extraits utilisés dans ce travail ; cela dans le but d'apprécier grossièrement la solubilisation de la rhaponticine au cours de ces préparations.

1° EXAMEN DES POUDRES AYANT SERVI A LA PRÉPARATION DES TEINTURES.

A) Examen à la lumière de Wood.

a) *Examen direct.* — Seule la poudre provenant de la préparation de la teinture de Rhapontic pur a montré une fluorescence violet-rouge. Celle-ci est comparable comme intensité à celle que donne dans les mêmes conditions la poudre de Rhubarbe contenant 40 à 50 p. 100 de poudre de Rhapontic. La moitié de la rhaponticine environ est donc passée en solution dans l'alcool au cours de la préparation de la teinture.

b) *Examen après action de l'eau.* — Toutes les poudres résiduelles exposées à la lumière de Wood après action de l'eau distillée, selon les indications déjà précisées, ont montré une fluorescence bleu-violet très nette. L'intensité de cette fluorescence va en diminuant du résidu des préparations de la teinture de Rhapontic pur à celui de la teinture de Rhubarbe falsifiée à 10 p. 100 ; mais elle est encore beaucoup trop grande pour permettre d'apprécier comparativement une différence même approximative comme nous avons pu le faire par l'examen direct.

B) EXAMEN PAR LA MÉTHODE A L'ACIDE SULFURIQUE.

L'acide sulfurique a indiqué la présence de rhapsodicine dans toutes les poudres résiduelles, même dans celles provenant de la préparation de la teinture falsifiée à 10 p. 100. En comparant l'intensité de cette réaction à celle obtenue dans les mêmes conditions sur des poudres de Rhubarbe falsifiées à des taux différents, nous avons pu conclure comme après l'examen direct à la lumière de Wood, qu'il passe dans la teinture au cours de sa préparation une quantité de rhapsodicine un peu inférieure à la moitié de celle contenue dans la poudre de Rhapontic utilisée.

2° EXAMEN DES POUDRES AYANT SERVI A LA PRÉPARATION DES EXTRAITS.

Les poudres soigneusement exprimées au cours de la préparation des extraits ont été desséchées pendant 8 jours à l'étuve à 36°.

A) *Examen à la lumière de Wood.*

a) *Examen direct.* — Seule la poudre provenant de la préparation de l'extrait de Rhapontic pur a donné une fluorescence violet-rouge appréciable bien que faible. Cette fluorescence correspond approximativement à celle que donne dans les mêmes conditions une poudre de Rhubarbe falsifiée à 20 ou 25 p. 100.

L'extrait de Rhapontic contiendrait donc environ les $\frac{3}{4}$ ou les $\frac{4}{5}$ de la rhapsodicine contenue dans la poudre de Rhapontic qui a servi à sa préparation.

b) *Examen après action de l'eau.* — Toutes les poudres examinées ont donné quoique avec une intensité décroissante la fluorescence bleu-violet caractéristique.

Mais ici encore, comme pour les résidus de préparation des teintures, la trop grande sensibilité de la réaction ne nous a pas permis d'évaluer même approximativement la quantité de rhapsodicine dissoute.

B) Examen par la méthode à l'acide sulfurique.

Toutes les poudres sauf celle provenant de la falsification à 10 p. 100 pour laquelle la réaction est douteuse et semble correspondre à la limite de sensibilité, contiennent de la rhaponticine.

La réaction donnée par la poudre provenant de la préparation de l'extrait de Rhapontic pur correspond comme intensité à celle que donne dans les mêmes conditions la poudre de Rhubarbe contenant 20 à 25 p. 100 de Rhapontic. La réaction donnée par la poudre provenant de la préparation de l'extrait falsifié à 50 p. 100 correspond comme intensité à celle que donne dans les mêmes conditions la poudre de Rhubarbe contenant 10 à 15 p. 100 de Rhapontic.

Comme l'examen direct à la lumière de Wood cette réaction montre que la quantité de rhaponticine dissoute par l'eau au cours de la préparation des extraits correspond approximativement au $\frac{3}{4}$ ou au $\frac{4}{5}$ de celle que contient la poudre de Rhapontic entrée dans leur préparation.

Il est donc possible que l'épuisement de la poudre de Rhapontic par l'eau soit un bon procédé d'extraction de la rhaponticine.

Remarques.

Bien que nous n'ayons pu déterminer ainsi que très approximativement la quantité de rhaponticine dissoute au cours de la préparation des teintures et des extraits, il est à remarquer que cette quantité ne semble pas dépendre de la proportion relative de solvant employé et que par conséquent l'épuisement n'est jamais complet. En effet : Puisque le résidu de préparation de la teinture de Rhapontic pur ne contient pas plus de rhaponticine qu'une poudre de Rhubarbe falsifiée à 50 p. 100 et celui de la préparation de l'extrait de Rhapontic pur pas plus qu'une poudre de Rhubarbe falsifiée à 20 p. 100, il semblerait logique d'admettre que le résidu de la prépa-

ration d'une teinture falsifiée à 50 p. 100 et celui d'un extrait falsifié à 80 p. 100 soient totalement privés de rhaponticine, la quantité de solvant, alcool ou eau ayant été toujours la même. Or il n'en est certainement pas ainsi, puisque tous les résidus même ceux résultant d'une préparation falsifiée à 10 p. 100, qu'il s'agisse d'une teinture ou d'un extrait, contiennent de la rhaponticine.

Il semble au contraire d'après ce que nous avons vu que quelle que soit la quantité de poudre de Rhapontic utilisée et par conséquent celle de rhaponticine, il existe entre cette quantité et la proportion de rhaponticine dissoute un rapport constant. Ce rapport étant de $1/2$ environ pour les teintures, et compris entre $3/4$ et $4/5$ pour les extraits.

Ces faits sont à rapprocher de ceux que nous avons observés lors de l'extraction de la rhaponticine : la poudre de Rhapontic n'ayant pu être complètement épuisée par l'acétone malgré la grande quantité de solvant employé.

Il est donc probable que l'extraction totale de la rhaponticine par l'acétone, l'alcool ou l'eau à froid est impossible et que la proportion de rhaponticine dissoute dépendant uniquement de la nature du solvant.

Il est possible que dans ces conditions l'emploi successif de solvants différents présente un grand intérêt. Nous n'en avons pas fait l'expérience et les auteurs qui ont eu recours à ce dernier procédé n'ont pas indiqué si l'épuisement avait été total.

Examen du Rheum Emodi Wall.

MAHEU dans son travail sur la fluorescence des *Rheum* attribue au *Rheum Emodi* Wall. une fluorescence brun velouté foncé analogue à celle que donnent les Rhubarbes officinales. A la suite de cette observation il range le *Rheum Emodi* Wall. dans la catégorie des Rhubarbes vraies ne contenant par conséquent pas de rhaponticine.

Nous avons été surpris de constater cependant que dans des travaux antérieurs à celui de MAHEU, certains auteurs avaient utilisé le *Rheum Emodi* Wall. comme source d'extraction de la rhaponticine.

Au cours des essais que nous avons effectués en vue d'expliquer cette contradiction, il ne nous a pas été possible de nous procurer du *Rheum Emodi* Wall. d'origine certaine, en quantité suffisante pour en extraire la rhaponticine. Néanmoins, nous avons pu disposer à l'herbier du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris d'un échantillon de *Rheum Emodi* portant la mention suivante :

Rheum Emodi — Plante de Chine
(Province du Yun-Nam) — M. l'Abbé DELAVAY.

Reçu le 24 mars 1890.

Déterminé par G. SAMUELSSON : R. KIALENSE.

Franch. pl. robusta (le 18-12-31).

Cet échantillon portait un fragment de rhizome que nous avons examiné à la lumière de Wood. Intact, il présentait sur la section une fluorescence brun-rouge intense. Un léger grattage a fait apparaître immédiatement une fluorescence violet-rouge très nette identique à celle que donne dans les mêmes conditions le *Rheum Rhaponticum* L., et caractéristique de la rhaponticine.

Nous ne connaissions pas à cette époque la réaction de fluorescence beaucoup plus sensible que nous avons exposée.

Nous avons beaucoup plus tard examiné des fragments de rhizomes et de racines provenant de *Rheum Emodi* du jardin de la Faculté de Pharmacie de Paris, dont nous n'avons pu d'ailleurs connaître l'origine exacte.

La drogue récoltée, préparée et desséchée par nos soins a été soumise aux examens suivants :

1° Examen direct à la lumière de Wood : Fluorescence violet-rouge très nette.

2° Examen à la lumière de Wood après action de l'eau distillée : Fluorescence bleu-violet très intense.

3° Examen par la méthode à l'acide sulfurique : Réaction fortement positive.

Il n'est donc pas douteux que ce *Rheum Emodi* contient de la rhaponticine.

En comparant les intensités des réactions précédentes à celles que donne dans les mêmes conditions le *Rheum Rhaponticum* L. que nous avons utilisé pour nos préparations, nous avons constaté que ce dernier est environ deux fois plus riche en rhaponticine que le *Rheum Emodi* du jardin de la Faculté.

N'ayant pu nous procurer des échantillons identiques à ceux que M. MAHEU a examinés, il nous est impossible d'infirmier ses conclusions. Cependant il semble bien très probable que les *Rheum Emodi* renferment tous de la rhaponticine et soient dès lors très différents des Rhubarbes vraies.

CONCLUSIONS.

Les principaux résultats exposés dans ce travail peuvent être résumés de la façon suivante :

1° La fluorescence violet-rouge caractéristique des poudres de Rhapontic examinées à la lumière de Wood, est due à la superposition de la fluorescence bleu-violet intense de la rhaponticine avec celles des autres constituants cristallisables du Rhapontic.

2° La rhaponticine, glucoside caractérisé par son insolubilité dans la plupart des solvants, peut cependant être extraite bien qu'incomplètement de la poudre de Rhapontic, par l'emploi d'un seul solvant : l'*acétone*. Le mode d'extraction est très simple. Ce même solvant soit anhydre, soit en mélange judicieux avec l'eau permet de séparer facilement la rhaponticine des autres constituants cristallisables du Rhapontic et d'isoler ainsi le glucoside à un degré de pureté très avancé.

La quantité de rhaponticine qu'il est possible d'extraire de la poudre de Rhapontic par l'emploi d'un solvant unique dépend de la nature de ce solvant.

3° Le moyen le plus pratique pour obtenir la rhaponticine très pure est de la régénérer par un courant d'anhydride carbonique de son dérivé sodé en solution aqueuse.

4° La rhaponticine ou rhaponticoside est bien un β glucoside hydrolysable par l'émulsine des amandes.

5° L'hydrolyse biochimique permet d'obtenir une aglycone très pure, non altérée : la rhapontigénine ; l'hy-

drolyse acide est au contraire très délicate et provoque l'altération de la plus grande partie de la rhapontigénine, corps très fragile.

6° Dans la molécule de rhaponticine la présence de glucose modifie la fluorescence de la rhapontigénine. La rhapontigénine pure donne en effet une fluorescence bleue très pâle ; la rhaponticine pure une fluorescence bleu-violet intense.

De même en milieu acide, la rhapontigénine possède la fluorescence de la rhaponticine.

7° L'examen comparé des spectres de fluorescence et d'absorption de la rhaponticine et de la rhapontigénine montre nettement la plus grande intensité de la fluorescence du glucoside par rapport à celle de l'aglycone et le déplacement du maximum de transparence de la rhapontigénine vers les petites longueurs d'onde par rapport à celui de la rhaponticine.

Il est curieux de constater que la poudre de Rhapontic qui à l'œil donne incontestablement en lumière de Wood une fluorescence violet-rouge, ne donne pas de spectrogrammes dans les radiations bleues ou violettes (1).

8° La teneur des Rhapontics en rhaponticine est variable ; les méthodes, même très sensibles utilisant les

(1) Notre travail était à l'impression lorsque nous avons eu connaissance d'une publication de WALLIS et WITHELL (a).

D'après ces auteurs la fluorescence caractéristique des Rhapontics en lumière de Wood peut être plus ou moins rapidement détruite par divers facteurs : la lumière ultra-violette, la lumière diffuse du jour, la chaleur. A la suite de ces observations les auteurs proposent pour déceler le Rhapontic dans une poudre de Rhubarbe une méthode par capillarité. Cette méthode n'est autre que celle déjà préconisée par WASICKY avec cette précision toutefois, que le papier filtre imprégné de la macération alcoolique filtrée est desséché à l'obscurité.

(a) T. E. WALLIS and E. R. WITHELL. — The Fluorescence and Detection of Rhapontic Rhubarb. *Pharm. J.*, 1934 **133**, 90-91.

propriétés de la rhaponticine ne peuvent donc pas permettre d'exprimer l'importance des falsifications de la Rhubarbe ou de ses préparations par le Rhapontic. Les résultats sont qualitatifs et ne peuvent être quantitatifs.

9° Le procédé utilisant la réaction colorée que donne la rhaponticine avec l'acide sulfurique concentré permet de déceler le Rhapontic dans les préparations de Rhubarbe falsifiées à des taux très inférieurs à ceux des falsifications courantes. Il est d'un emploi beaucoup plus pratique et d'une sensibilité plus grande que les procédés chimiques existant jusque là.

10° La méthode utilisant la fluorescence de la rhaponticine à la lumière de Wood permet de déceler avec une grande facilité jusqu'à des traces de Rhapontic dans les préparations de Rhubarbe.

Vu, bon à imprimer :
Le Président de la Thèse,

A. GORIS.

Vu :
Le Doyen de la Faculté,
PAUL GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE.

- Em. BOURQUELOT. — Recherches, dans les végétaux, du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine. *C. R.*, 1901, **133**, 690. *Journ. Pharm. Chim.*, 1901, **14**, 481.
- Em. BOURQUELOT. — Sur la recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *Journ. Pharm. Chim.*, 1906, **23**, 369.
- Em. BOURQUELOT et Em. VERDON. — Action de l'émulsine sur la gentiopicroine, en solution dans l'acétone et dans l'éther acétique. *Journ. Pharm. Chim.*, 1912, **5**, 534-539.
- W. BRANDT. — Prüfung und Wertbestimmung von Rhizoma Rhei. *Pharm. Ztg.*, 1922, **67**, 508-509 et 520-522.
- Ph. BRETIN et A. LEULIER. — Essais d'identification des drogues par la fluorescence. *Bull. Sc. Pharm.*, 1924, **31**, 630-631.
- M. BRIDEL. — Sur l'hydrolyse par l'émulsine de deux glucosides considérés comme non hydrolysables par ce produit fermentaire asébotoside (asébotine) et phlorizoside (phlorizine). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, **12**, 921-930.
- U. CRISTOFOLETTI. — Studien über Rheum Rhaponticum. *Inaugural dissertation der Philosophischen Fakultät der Universität Bern*. Bächler et Co. Bern., 1905, 63 p. 5 fig.
- G. FODOR und A. KICHLER. — Beiträge zur Lumineszenzanalyse von Drogen und galenischen Präparaten. *Pharm. Monat.*, 1930, **2**, 29-31.
- M. GHOUSE Mohiuddin und M. C. TUMMIN KATTI. — Rhaponticin und Anthrachinon derivate aus Rheum Emodi Wall (Indischer oder Himalaya Rhabarber). *J. Indian Inst. Sc.*, 1933, **16**, 1-9. In *C.C.*, 1933, **2**, 1059.
- E. GILSON. — Les Tannoïdes de la Rhubarbe de Chine. *Bull. de l'Acad. roy. de Med. de Belg.*, 27 décembre 1902.
- E. GILSON. — Sur un nouveau glucoside : La Ponticine. *Bull. de l'Acad. roy. de med. de Belg.*, 28 mars 1903.

- E. GILSON. — Les principes purgatifs de la Rhubarbe de Chine. *Mem. dep. à l'Acad. roy. de Belg. pour l'obtent. du prix Alvarenga*. 15 janvier 1905.
- O. HESSE. — Über Rhabarberstoffe und damit verwandte Körper. *Liebigs Ann.*, 1899, **309**, 32-75.
- O. HESSE. — Ueber die Rhapontikwurzel und die österreichische Rhabarber. *J. Prakt. Chem.*, 1908, **77**, 321-352.
- J. J. HOLMSTRÖM. — Untersuchung der Wurzeln von Rheum Emodi Webb. *Schw. Apoth. Ztg.*, 1921, **59**, 169-175 et 183-189.
- ~~VON HEREN~~ G. L. HORNEMANN. — Ueber die Verwechslung der Wurzeln der Rhabarber mit denen der Rhapontik, neft einen Auszuge aus meinen Analysen mehrerer Rhabarbersorten und der Rhapontik Wurzel. *Berl. Jahrb. f. d. Pharm.*, 1822, **23**, 252-286.
- M. JOACHIMOVITZ. — Die Unterscheidung von Rheum Rhaponticum und Rheum chinense. *Pharm. Monat.*, 1924, **5**, 134-136.
- M. JOACHIMOVITZ. — Ueber Rhapontik. *Pharm. Monat.*, 1924, **5**, 204-205.
- A. JUILLET. — Recherche de la poudre de Rhapontic dans la poudre de Rhubarbe. *Bull. Pharm. d. S.E.*, 1913, **18**, 137-139.
- R. A. KONNERTH and R. E. SCHOETZOW. — « Türkisch » Rhubarb. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 1930, **19**, 31-32.
- R. A. KONNERTH and R. E. SCHOETZOW. — Comments on the U.S.P.X. Test for Rhapontic Rhubarb. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, **18**, 1235-36.
- J. MAHEU. — Méthodes de différenciation et de détermination de valeur des Rhubarbes, basées sur la fluorescence. *Bull. Sc. Pharm.*, 1928, **35**, 278-288.
- M. RUSKOWSKI. — Beitrag zum Studium in Polen Kultivierten Rhabarber. *Sprawozdania z. Prac. Państwowego Instytutu farmaceutycznego.*, 1925, 12 p. In C. C., 1930, **1**, 1339-1340.
- A. TSCHIRCH. — Ein einfaches Mittel, Rhapontic von Rhabarber zu unterscheiden. *Schweiz. Wochenschrift d. ch. u. Pharm.*, 1905, **43**, 252-253.
- A. TSCHIRCH et U. CRISTOFOLETTI. — Ueber die Rhaponticwurzel. *Arch. der. Pharm.*, 1905, **243**, 443-457.
- A. TSCHIRCH und J. EDNER. — Ueber den englischen und französischen Rhabarber. *Arch. der. Pharm.*, 1907, **245**, 139-149.
- A. TSCHIRCH und M. RUSKOWSKI. — Ueber einen neuen Rhabarber vom Altaï. *Arch. der. Pharm.*, 1913, **251**, 121-136.

- S. TUKATS. — Ueber eine neue Rheum-Handelssorte « Tai-Hwang ». *Pharm. Monat.*, 1933, **14**, 35-36.
- O. TUNNMANN. — Zur Unterscheidung von Rhapontic und Rheum. *Pharm. Post.*, 1918, **51**, 605-608.
- T. E. WALLIS and E. R. WITHELL. — The Fluorescence and Detection of Rhapontic Rhubarb. *Pharm. J.*, 1934, **133**, 90-91.
- R. WASICKY. — Die Anwendung der Fluorenz in der Pharmazie. *Pharm. Monat.*, 1929, **10**, 17.
- WEPPEN. — *Handwörterb. d. Chem.*, **6**, p. 827. (In O. Hesse).
- C. WIMMER. — Mikrochemische Unterscheidung von Rhapontik und Rheum. *Pharm. Post.*, 1919, **52**, 221.
-

TABLE DES MATIERES.

	Pages
INTRODUCTION	5
PREMIÈRE PARTIE :	
I) Données antérieures relatives à la composition chimique des Rhapontics	9
Premiers travaux de HESSE	10
Travaux de GILSON	11
— de TSCHIRCH et CRISTOFOLETTI	14
— de TSCHIRCH et EDNER	17
Deuxièmes travaux de HESSE.....	18
Travaux de TSCHIRCH et RUSKOWSKI	21
— de HOLMSTRÖM.....	23
II) Données antérieures relatives aux méthodes chimiques utilisant les réactions de la rhaponticine pour déceler le Rhapontic dans les préparations de Rhubarbe	28
III) Données antérieures relatives aux méthodes utilisant la fluorescence en lumière de Wood pour déceler le Rhapontic dans la Rhubarbe et ses préparations.....	37
DEUXIÈME PARTIE :	
I) Extraction de la rhaponticine et des autres constituants cristallisables du Rhapontic	43
Purification de la rhaponticine.....	58

II) Etude des principales propriétés de la rhaponticine	62
Constantes physiques	62
Réactions colorées	65
Fluorescence à la lumière de Wood	66
Action des acides et des alcalis sur la fluorescence de la rhaponticine	68
Hydrolyse acide	71
Hydrolyse biochimique	73
Extraction des produits d'hydrolyse	87
Principales propriétés de la rhapontigénine	91
Comparaison des spectres de fluorescence et d'absorption dans l'ultra-violet de la rhaponticine, de la rhapontigénine et de la poudre de Rhapontic	94

TROISIÈME PARTIE :

Recherche des falsifications de la Rhubarbe et de ses préparations galéniques par le Rhapontic	99
Méthode utilisant la réaction à l'acide sulfurique concentré	101
Essai sur les poudres	102
Essai sur les extraits	102
Essai sur les teintures	103
Méthode utilisant la fluorescence à la lumière de Wood	108
Examen des poudres	111
Examen des extraits	113
Examen des teintures	113
Examen des résidus des préparations galéniques	115
CONCLUSIONS	121

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE M. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.

